

WIRKSAMKEIT VON AESCIN NACH ORALER
APPLIKATION UND ANGRIFFSORT FÜR SEINE
ANTIÖDEMATÖSEN UND VASOAKTIVEN EFFEKTE

ANDREA SCHMIDT

*Diss
München
1985*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
der Medizinischen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Forth

Arbeit angefertigt unter der Leitung von
Prof. Dr. Wolfgang Felix

vorgelegt über
Prof. Dr. A. Petter
Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
(kommissarischer Leiter: Prof. Dr. W. Leidl)

WIRKSAMKEIT VON AESCIN NACH ORALER APPLIKATION UND
ANGRIFFSORT FÜR SEINE ANTIÖDEMATÖSEN UND
VASOAKTIVEN EFFEKTE

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Andrea Schmidt
aus Hof

München 1985

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. W. Leidl

Referent: Prof. Dr. A. Petter

Korreferent: Priv.Doiz. Dr. Dr. habil. R. Stolla

Tag der Promotion: 26. Juli 1985

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I EINLEITUNG	3
II LITERATUR	6
1. Allgemeine Pathophysiologie der Venen	6
2. Chronische Veneninsuffizienz	6
3. Therapeutische Maßnahmen	8
4. Aescin	9
4.1 Pharmakokinetik von Aescin	11
4.1.1 Verteilung, Elimination und Metabolismus nach intravenöser Injektion	11
4.1.2 Absorption, Metabolismus und Ausscheidung nach oraler Applikation	11
4.2 Toxizität von Aescin	12
4.3 Pharmakodynamik von Aescin	13
4.3.1 Antiexsudative Wirkung beim entzündlichen Ödem	13
4.3.2 Antiexsudative Wirkung beim nichtent- zündlichen Ödem	14
4.3.3 Änderung der Gefäßpermeabilität durch Aescin	14
4.3.4 Venentonisierung durch Aescin	16
4.4 Hypothesen über den Wirkungsmechanismus	17
III EIGENE UNTERSUCHUNGEN - METHODIK	19
1. Ödemversuch am Hinterlauf der narkotisierten Katze	19
2. Versuche an isolierten Meerschweinchen- karotiden	31
IV ERGEBNISSE	37
1. Wirkung von Aescin auf das Polidocanolödem am Hinterlauf der Katze	37
1.1 Ödemprotein von Muskel und Haut	38
1.2 Ödemwasser von Muskel und Haut	41
1.3 Venendruck, Blutdruck und Perfusionsdruck ...	43
1.4 Filtration nach Endothelschädigung	46

	Seite
2. Die protektive Aescinwirkung an isolierten Meerschweinchenkarotiden	52
3. Die Aescinwirkung am Gefäßendothel isolierter Meerschweinchenkarotiden	62
3.1 Intravasale Applikation	62
3.1.1 Am unvorbehandelten Präparat	62
3.1.2 Am vorbehandelten Präparat	63
3.2 Extravasale Applikation	65
3.2.1 Am unvorbehandelten Präparat	65
3.2.2 Am vorbehandelten Präparat	65
3.3 Aescin und Acetylcholin	68
3.4 Zweimalige Aescinapplikation	70
3.5 Aescinwirkung nach geschädigtem Gefäßendothel	71
3.6 Beeinflussung der Aescintonisierung	72
3.7 Beeinflussung der Aescindilatation	72
V. DISKUSSION	74
1. Methodik	74
2. Ödemprotektive Aescinwirkung nach oraler Applikation	77
3. Protektive Aescinwirkung an isolierten Meerschweinchenkarotiden	82
4. Aescinwirkung am Gefäßendothel isolierter Karotiden	84
VI ZUSAMMENFASSUNG / SUMMARY	89
VII LITERATURVERZEICHNIS	93

I. EINLEITUNG

In unserer heutigen Zeit stellen Venopathien einen hohen Anteil an der Zahl der Patienten dar. Nach der Tübinger Studie (Fischer 1981) ist in der Bundesrepublik Deutschland ein Achtel der Erwachsenen mit beginnender oder leichter Veneninsuffizienz behaftet, eine knappe Million Menschen haben ein chronisches Ulcus-Leiden und von diesen hat jeder vierte ein offenes Ulcus. Betroffen sind besonders die 30 bis 50-jährigen. Die Morbidität nimmt mit steigendem Alter zu. So findet man schwere Varicosis, Thrombophlebitis und chronische Veneninsuffizienz vor allem bei älteren Menschen, während bei jungen Patienten die Venopathien vorwiegend ein kosmetisches Problem darstellen.

Seit langem wird zur Linderung dieser Beschwerden ein Extrakt aus den Samen der Roßkastanien verwendet. Die wesentliche Begründung für den Einsatz des Roßkastanienextraktes ist die symptomatische Behandlung, deren Wirksamkeit auf dessen Hauptinhaltsstoff Aescin zurückgeführt wird. Aescin soll prophylaktisch auf die Ödementstehung einwirken und auch bei leichten bestehenden Ödemen auf Grund seiner vasoaktiven Eigenschaft Linderung verschaffen, wobei vor allem eine Tonisierung der Venen von Bedeutung ist.

Die Wirksamkeit von Aescin wird jedoch oft angezweifelt. Es wird behauptet, man könne noch so viel davon einnehmen, aber es bewirkt nichts. Dabei wird besonders die Wirksamkeit nach oraler Einnahme in Frage gestellt.

Jedes Pharmakon hat in einem bestimmten Dosisbereich seine maximale Wirkung. Erhöht man die Dosis weiter, ändert sich

die Stärke der Wirkung nicht. Anders verhält es sich bei ödemprotektiven Pharmaka. Hier wirken supramaximale Dosen schwächer, sogar bis hin zur Wirkungslosigkeit. Dies gilt auch für Aescin (Felix 1982). Hinzu kommt, daß Aescin auf Grund seiner Saponineigenschaft in sehr hohen Dosen eine Zellschädigung hervorruft, die dann die Entstehung von Ödemen begünstigt. In bisherigen Versuchen wurde die ödemprotektive Aescinwirkung nur nach akuten intravenösen Applikationen und nach hochdosierten einmaligen oralen Gaben untersucht. Deshalb sollte der Frage nachgegangen werden, ob das Aescin in geringen Dosen nach chronischer oraler Medikation auch schon wirksam ist (Perfusionsversuch an der Hinterextremität narkotisierter Katzen). Die hohe Gewebahalbwertszeit bei kurzer Plasmahalbwertszeit von ödemprotektiven Pharmaka bekräftigen diese Annahme. Es besteht zusätzlich die Möglichkeit, daß die Absorptionsquote bei niedrigen Dosen vielleicht etwas höher liegen könnte.

Da das Saponin Aescin eine oberflächenaktive Substanz ist, stellte sich auch die Frage wo das Aescin seine Wirkung ausübt. Bildet es einen unspezifischen Schutzfilm über zu schützende Strukturen, oder wirkt es am Gefäßendothel über eventuell dort vorhandene Rezeptoren, wofür es die Blutbahn nicht verlassen müßte.

Um diesen Fragen näherzukommen wurden parallel zu den in-vivo Versuchen an Katzen, in-vitro Versuche an isolierten Meerschweinchenkarotiden durchgeführt. Dabei wurde zum einen untersucht, ob Aescin eine Schutzwirkung auf das Gefäßendothel

und die glatte Muskulatur gegenüber der Noxe Polidocanol ausübt, zum anderen, ob eine Aescinwirkung an ein intaktes Endothel gebunden ist. Letzteres wurde mit Acetylcholin überprüft, nachdem Furchgott und Zawadski (1980) zeigen konnten, daß Acetylcholin nur solange wirkt, als das Endothel unbeschädigt vorhanden ist.

II. LITERATUR

1. Allgemeine Pathophysiologie der Venen.

Die Funktionen des venösen Systems beinhalten Blut-speicherung, Blutmobilisation und Blutleitung. Die Abstimmung von Tonus und Volumen gewährleistet, daß das System diesen Aufgaben gerecht werden kann.

Venenveränderungen können durch primären Umbau der Wand entstehen oder sich reaktiv aus einer funktionellen Überbelastung entwickeln, z.B. bei überhöhtem Innen-druck im venösen Gefäß. Mangelhafter Gefäßtonus, Klappeninsuffizienz und Störung der Muskelpumpe führen zu Varizenbildung, Venenektasien und zu mangelhaftem Druckabfall im venösen Bereich, konsekutiv kommt es zur Filtration und zum Ödem. (Schneider, Fischer 1969)

Nach Querschnittsthrombose der venösen Gefäßbahn kommt es zu einem Venendruckanstieg. Daraus resul-tiert eine Verringerung der Rückresorption der interstitiellen Flüssigkeit. Gleichzeitig werden durch den erhöhten Innendruck die Kapillarwände geschädigt und vermehrt eiweißreiche Flüssigkeit in das Gewebe abgegeben. Der ansteigende onkotische Druck im Gewebe verstärkt die Ödembildung. Die Rekanalisierung der venösen Thrombose liegt bei 80%. Es bleiben jedoch Wandunregelmäßigkeiten und Stenosen zurück. Auch die Venenklappen sind weitgehend zerstört und es kommt zur Veneninsuffizienz (Rudofsky 1982).

2. Chronische Veneninsuffizienz

Die chronische Veneninsuffizienz wird durch Klappen-

inzuffizienz der oberflächlichen und tiefen Venen hervorgerufen. Da die Venenklappen nicht mehr funktionieren, kommt es zum Blutreflux, der Venendruck steigt und fällt auch bei Muskularbeit nicht mehr ab. Die Blutsäule lastet auf dem Kapillargebiet, die Rückresorption ist gehemmt, die Auswärtsfiltration vermehrt. Die Lymphbahnen können diesen Zustand auf Dauer nicht kompensieren (Schneider, Fischer 1969). In das Gewebe ausgetretene Erythrozyten werden abgebaut, das Hämoglobin als Hämosiderin in die Haut abgelagert. Der Eiweißgehalt im Gewebe steigt. Fibrinogen wird in Fibrin umgewandelt und so das interstitielle Bindegewebe vermehrt. Es entwickelt sich unter Zellschwund langsam eine Induration (Stünzi, Weiss 1982). Die Versorgung des Gewebes mit Sauerstoff und Nährstoffen und die Entsorgung von CO_2 und Stoffwechselmetaboliten ist gestört (Rudofsky 1982). Als Komplikation können Entzündungen, Ekzeme bis hin zum Ulcus auftreten.

Der transkapilläre Flüssigkeitsaustausch ist die Voraussetzung für die Aufrechterhaltung der Lebensfunktionen in den einzelnen Geweben. Unter physiologischen Bedingungen befindet sich etwa ein Viertel des extrazellulären Flüssigkeitsvolumens in den Gefäßen, während der Rest auf den interstitiellen Raum verteilt ist (Stumpe, Krück 1970).

Die Gesetzmäßigkeiten, denen der Austausch zwischen intravasalem und interstitiellem Flüssigkeitsraum unterliegt, wurden von Starling (1886) in einer bis heute gültigen Form aufgezeichnet.

Dem hydrostatischen Druck in den Kapillaren, der für die Filtration verantwortlich ist, wirkt der interstitielle Flüssigkeitsdruck entgegen. Dem kolloidosmotischen Druck in den Kapillaren, der die Resorption bestimmt, ist der kolloidosmotische Druck in der interstitiellen Flüssigkeit entgegengerichtet.

Der postkapilläre bzw. venöse Widerstand und damit der Kapillardruck ist geringer als der präkapilläre bzw. arterielle Widerstand. Wegen dieser Differenz wird Flüssigkeit am arteriellen Kapillarende filtrierte und am venösen Kapillarende resorbiert (Stumpe, Kruck 1970). Unter physiologischen Bedingungen befinden sich Resorption und Filtration im Gleichgewicht und es herrscht ein isovolumetrischer Zustand. Diese Wechselbeziehung ist jedoch an eine intakte Kapillarmembran gebunden, die für große Moleküle wie Eiweiß undurchlässig ist. Veränderungen in Struktur und Permeabilität müssen demnach Auswirkungen auf den transkapillären Flüssigkeitsaustausch haben, wobei es zu einer Nettofiltration ins Gewebe und somit zu einem Ödem kommt.

3. Therapeutische Maßnahmen

Die Behandlung der Venopathien kann chirurgisch und konservativ erfolgen.

Die chirurgischen Maßnahmen bestehen aus Entfernen der varicös veränderten Gefäße, vor allem bei oberflächigen Venen und aus rekonstruktiver Lumenwiederherstellung mit Beseitigung potentieller Embolusstreuherde. Eine ergänzende Behandlungsmethode stellt das Veroden dar, welches eine Gefäßwandschädigung hervorruft, wodurch eine Thrombusbildung mit bindegewebiger Organisation und bleibender Obturation der betreffenden Gefäßstrecken erzielt wird (Wienert 1984).

Zu den konservativen Maßnahmen zählen Kompressionsverbände, Massagen und Gymnastik.

Für die medikamentöse Behandlung stehen viele Pharmaka zur Verfügung, wie Antikoagulantien, Antiphlogistika, Diuretika, Vasokonstriktoren, Vasodilatoren und die sogenannten ödemprotektiven Substanzen, zu denen das Saponin Aescin aus der Roßkastanie gehört.

Ödemprotektive Pharmaka beinhalten die eigentlichen Venenmittel, die bei Venenkranken am häufigsten verordnet werden (Wienert 1984). In der Literatur findet man für diese Pharmakagruppe die verschiedensten Bezeichnungen. Sie werden auch als antiödematöse oder antiexsudative Pharmaka oder ganz allgemein als Venenpharmaka bezeichnet. In neuester Zeit hat sich jedoch der Begriff ödemprotektive Pharmaka durchgesetzt, da sie im Gegensatz zu den Diuretika, welche Ödeme ausschwemmen, deren Entstehung im vorneherein hemmen. Sie werden vor allem zur Behandlung des "dicken Beins" eingesetzt.

Sie werden zur Hemmung beider Ödemformen angewandt, sowohl beim rein hämodynamischen Ödem, bei dem ein erhöhter Venendruck niedrigmolekulare Flüssigkeit in das Gewebe filtiert und bei dem morphologischen Ödem, bei dem die Kapillaren für Eiweiß durchlässig geworden sind (Felix 1982).

4. Aescin

Zahlreiche Venenmittel enthalten einen Extrakt aus der Roßkastanie (*Aesculus hippocastaneum*). Dieses Phytotherapeutikum, ein pflanzliches Glykosid, wurde schon 1564 im Kräuterbuch des Lonicerus erwähnt. Pflanzliche Glykoside bestehen aus einem zuckerfreien Teil, dem Genin oder Aglykon und einem oder mehreren Zuckern. Heute darf es als gesichert angenommen werden, daß die Triterpenglykoside das pharmakologisch wirksame Prinzip des Roßkastanienextraktes darstellen. Van der Haar führte dafür den Namen Aescin ein (Patt, Winkler 1960), (Abb. 1).

Das saure Saponin Aescin besteht aus dem Aglykon Aescigenin, einem pentacyclischen Triterpen und aus einem aus Glucose und Glucuronsäure zusammengesetzten Zuckeranteil (Patt, Winkler 1960). Wagner et al. (1970) erkannten am Aglykon eine weitere Differenzierung des Moleküls. Sie konnten eine Wanderung der in 22a - Stellung veresterten Acetylgruppe (= β -Aescin) nach Stellung 28 nachweisen. Das sich aus dieser Acetylwanderung ergebende stabile Isomerengemisch wurde von den Autoren als α -Aescin bezeichnet (Wagner et al. 1970).

α -Aescin besitzt ein mittleres Molekulargewicht von 1132 (Lang 1984), zeigt im sauren Milieu eine gute Wasserlöslichkeit, ist amorph und mäßig hämolytisch aktiv, während β -Aescin schwer löslich, kristallisiert und hämolytisch stark aktiv ist (Wagner et al. 1970). Beide bilden wie alle Saponine mit Cholesterin einen stabilen Komplex (Glauert et al. 1962).

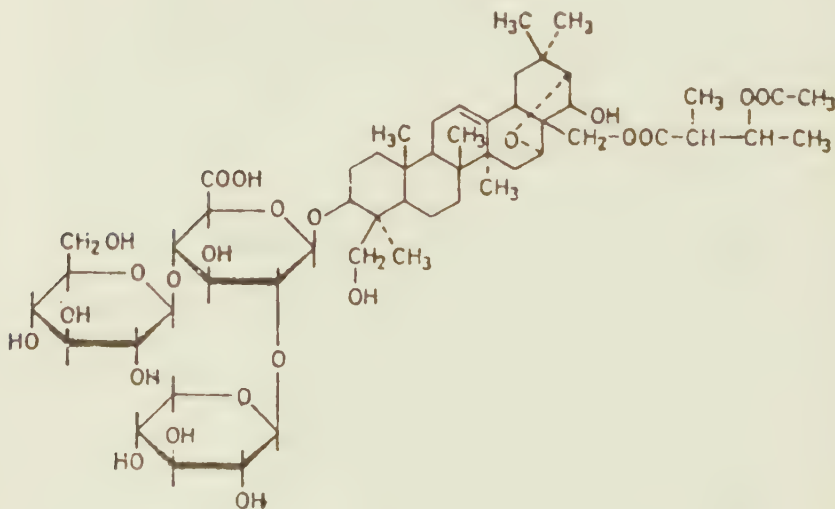


Abb. 1: Strukturformel von Aescin, dem Hauptinhaltsstoff des Roßkastanienextraktes.

Aescigenin-(2-methyl-3-acetoxybutyrat)-(2-xylosidero-4-glucosidoglucuronosid).

4.1 Pharmakokinetik von Aescin.

4.1.1 Verteilung, Elimination und Metabolismus nach intravenöser Injektion

Lang und Mennicke (1972) zeigten, daß ^3H -Aescin rasch aus dem Blut in die Lymphe übertritt. Die Autoren fanden hohe Konzentrationen in Galle und Harn. Die Ausscheidung erfolgt rasch zu zwei Drittel über die Galle und zu einem Drittel über die Nieren. Es konnten jedoch kaum radioaktive Metaboliten nachgewiesen werden.

4.1.2 Absorption, Metabolismus und Ausscheidung nach oraler Applikation

Nach Instillation von ^3H -Aescin mit der Schlundsonde in den Magen steigt die Gesamtaktivität im Blut bis 10h nach Applikation bei Maus und Ratte linear an, danach wird ein Plateau erreicht, das erst nach 1 - 2 Tagen abfällt. Im Gegensatz zu den i.v. Versuchen traten nach kurzer Zeit in Blut, Galle und Harn mehrere Stoffwechselprodukte des Aescins auf. Für Aescin und Aescinmetabolite ergab sich eine Absorptionsrate von 12,5 % der applizierten Dosis (Lang, Mennicke 1972). Henschler et al. (1971) ermittelten, daß die Resorption über die Dünndarmwand um ein vielfaches größer ist als über die Magenwand. Sie erklärten dies mit der Tendenz aller Saponine zur Mizellbildung, die vermehrt im Darm vorliegt, und mit der dort kleineren Molekülgröße. Die Ausscheidung erfolgt zu 3/4 über die Galle und zu 1/4 über den Harn (Lang, Mennicke 1972).

4.2 Toxizität von Aescin

Lorenz und Marek (1960) ermittelten als LD₅₀-Werte bei intravenöser Applikation bei Mäusen 9,3 mg/kg, bei Ratten 16,8 mg/kg, bei Meerschweinchen 9,13 mg/kg und bei Kaninchen 5,6 mg/kg. Hampel et al. (1970) fanden als LD₅₀-Werte bei Mäusen 3,2 mg/kg i.v. und 320 mg/kg oral, bei Ratten 5,4 mg/kg i.v. und 720 mg/kg oral, bei Meerschweinchen 15,2 mg/kg i.v. und 475 mg/kg oral, bei Hunden 2,0 mg/kg i.v.

Nach Übel und Patt (1960) ist die Toxizität des intravenös zugeführten Aescins durch dessen Hämolyseaktivität bedingt. Sie ermittelten beim Kaninchen eine deutliche intravitale Hämolyse bei einer Aescindosis von 5 mg/kg.

Bei der akuten intravenösen Vergiftung zeigen die Nieren das typische Bild der sogenannten Hämolyse- oder Chromoprotein-Niere (Zollinger 1951). In der Leber findet man Hämoglobinhämozytose in den Sternzellen und eine gesteigerte Zellfunktion bis hin zum Zellkollaps und diffuse Parenchymlutungen. Es tritt immer Milzschwellung auf (Helmke 1939).

Bei chronischer Aescinzufuhr stellten Übel und Patt (1960) im Knochenmark eine sehr starke Aktivierung der Erythropoese fest. Hohe orale Aescindosen führen zu einer dosisabhängigen Schädigung der Darmschleimhaut, beginnend bei 35 mg/kg. Dosen ab 100 mg/kg führen zu ausgedehnten Schleimhautnekrosen mit Blutungen und sehr starken entzündlichen Zellinfiltraten.

4.3 Pharmakodynamik von Aescin

4.3.1 Antiexsudative Wirkung beim entzündlichen Ödem

Von den Ödemformen stellt das morphologische Ödem, bei dem das Endothel für Eiweiß durchlässig geworden ist, den weiter fortgeschrittenen Krankheitszustand dar. Die Hemmung der Prozesse, die dazu führen, ist eine wesentliche Wirkung des Aescins (Felix 1982).

Die ödemmindernde Wirkung intravenös verabreichten Aescins in Dosen von 0,25 - 1 mg/kg ist wiederholt nachgewiesen worden (Lorenz und Marek 1960, Vogel et al. 1970, Hampel et al. 1970). Auch das durch Dextran (Preziosi und Manca 1965, Aizawa et al. 1974), Carrageenin (Aizawa et al. 1974), Kaolin, Histamin, Bradykinin, Verbrennungen (Vogel et al. 1970) und Trauma (Uhlir 1981) provozierte Ödem ist durch Aescin im selben Dosisbereich zu vermindern. Aescin in einer Dosierung von 0,35 - 0,7 mg/kg i.v. mindert auch die Exsudatbildung in der Bauchhöhle um 25 %, die durch intraperitoneale Injektion von Formalin an Ratten ausgelöst wird (Rothkopf und Vogel 1976).

Eine Hemmwirkung ist vor allem für jene Ödeme gegeben, die das initiale Exsudationsstadium der Entzündung repräsentieren. Aescin bleibt dagegen in jenen Modellen, die stellvertretend für die reparative Spätphase der Entzündung stehen, ohne Wirkung. So wird die Neubildung von Bindegewebe im Crotonöl-Granulombeutel- und Cottonpellet-Test nicht gehemmt (Vogel et al. 1970). Die ödemmindernde Wirkung nach oraler Aescinapplikation wird in der Literatur unterschiedlich beurteilt. Lorenz und Marek (1960) konnten keine ödembeeinflussende Wirksamkeit beobachten. Dagegen zeigten Eisenburger

et al. (1976) eine schwache entzündungshemmende Wirkung nach oral verabreichtem Aescin (4 - 16 mg/kg) am UV-Erythem von Ratten.

4.3.2 Antiexsudative Wirkung beim nichtentzündlichen Ödem.

Hampel et al. (1970) erzeugten bei Ratten ein Stauungs-ödem, indem sie die Venae jugulares externae unterbanden. Bei den Ratten, die Aescin in einer Dosis von zweimal 1 mg/kg i.v. im Abstand von 24 h erhielten, konnte eine Verminderung des Stauungsödems um 74 % beobachtet werden. Am gleichen Ödemmodell verglichen Eisenburger und Mitarbeiter (1976) die Wirkung von Phenylbutazon, Hydrocortison, Furosemid und Aescin. Dabei erhielten Ratten eine orale Aescindosis von 4 - 16 mg/kg. Es zeigte sich ein Hemmeffekt auf das Stauungsödem von 20 - 43 %. Furosemid und Hydrocortison wirkten ebenfalls hemmend, während Phenylbutazon kaum einen Einfluß hatte.

Arnold und Przerwa (1976) wiesen einen nur teilweise signifikanten, ödemprotektiven Effekt des Aescins am postischämischen Ödem der Muskulatur nach, bei dem sie die Blutzirkulation der rechten hinteren Rattenextremität für 60-120 min unterbrachen. Dabei wurden 16 Stunden vor Anlegen des Staugummis 0,2 mg/kg Aescin intravenös appliziert.

4.3.3 Änderung der Gefäßpermeabilität durch Aescin.

Wie Hammersen (1972) in einer elektronenoptischen Untersuchung zeigte, minderte Aescin beim Dextranödem der Ratte den Durchtritt von als Indikator verwendeter Tusche durch terminale venöse Gefäße. Dabei wurde der Effekt des Aescins anhand der Zahl der für Tusche durch-

lässigen Gefäße im Vergleich zu Kontrollen quantifiziert. Die durch Dextran hervorgerufenen Endothelschäden wurden unter der Wirkung von Aescin reduziert. Weitere Untersuchungen mit anderen Indikatorverbindungen wurden mit Roßkastanienextrakt durchgeführt, welcher 18,2 % Aescin enthielt. So konnten Arnold und Przerwa (1976) mit Roßkastanienextrakt (20 mg/kg i.v.) den Austritt von Evansblue als Indikator der Gefäßpermeabilität vermindern, der nach Kälteschädigung des Rattenhirns auftritt. Ähnliche Untersuchungen mit ^{32}P (Hess 1967) zeigten, daß der Roßkastanienextrakt in einer Dosis von 30 mg/kg i.p. bei experimentell ausgelösten Schädigungen der Blut-Hirnschranke eine Abdichtung für Moleküle ab einer bestimmten Größe und damit eine Minderung des Ödems bewirkt.

Von verschiedenen Autoren wird der sogenannte Petechientest als Meßmethode für die Brüchigkeit von Hautkapillaren eingesetzt. Dabei werden auf der Haut einer Extremität mittels Saugglocke (300 mm Hg Unterdruck) punktförmige Hautblutungen hervorgerufen. Die Zeit bis zum Sichtbarwerden der ersten Petechien oder ihrer Anzahl nach einer definierten Zeit dienen dabei als Maß der Kapillarwandbeschaffenheit. Ein wesentliches Problem stellt aber der Petechientest selbst dar, dessen Ergebnis nicht nur von der Kapillarfestigkeit abhängt, sondern ebenso von der Durchblutung, welche durch Temperatur, durch endogene Faktoren und durch Pharmaka verändert werden kann, von der Vermaschung der Kapillaren, von deren Einbettung in das Gewebe und vom Zustand des Gewebes selbst (Felix 1980). Lorenz und Marek (1960) zeigten anhand dieses Festes einen kapillarresistenzsteigernden Effekt des Aescins. Buchholz (1957) wandte den Petechientest bei schwangeren Frauen an, deren Kapillarresistenz sich in

dem Test als niedrig erwies. Nach dreimonatiger Therapie mit Roßkastanienextrakt (18,2 % Aescin) fand der Autor eine Normalisierung des Parameters:

4.3.4 Venentonisierung durch Aescin.

Die hämodynamischen Wirkungen des Aescins werden seit längerer Zeit untersucht und diskutiert.

Annoni und Mitarbeiter (1979) stellten an isolierten spiralig aufgeschnittenen Vv. saphenae des Menschen Dosiswirkungskurven auf. 90 % der durch Aescin erreichten maximalen Kontraktion werden in einer Konzentration von 10^{-4} g/ml bewirkt, Dagegen schwankt die Konzentration, die 10 % der durch Aescin auslösbaren maximalen Kontraktion bewirkt, zwischen 10^{-9} - 10^{-5} g/ml. Die Tonisierung hält mindestens eine Stunde an. Ein kontrahierender Effekt des Aescins wird auch an isolierten Venen anderer Spezies gefunden. So von Berti und Mitarbeiter (1977) an der Portalvene des Kaninchens (2×10^{-6} g/ml). Pauschinger et al. (1974) fanden an der isolierten spiralig aufgeschnittenen A. und V. facialis des Rindes unterschiedliche Reaktionen. Während die Venenpräparate auf Aescin ($0,5 - 1 \times 10^{-4}$ g/ml) stets mit einer Spannungszunahme reagierten, zeigten die Arterien zuerst eine geringe aber deutliche Spannungsabnahme und bei Erhöhung der Konzentration auf $2,5 \times 10^{-4}$ g/ml ebenfalls eine Spannungszunahme.

Anhand von plethysmographischen Messungen vermuteten Pauschinger et al. (1974) und Nehring (1966) nach einmaliger Medikation von 300 mg Venostasin (= 50 mg Aescin) eine tonisierende Wirkung im peripher venösen Kreislaufsystem. Dagegen fanden Lange und Echt (1972) und Lochs und Mitarbeiter (1974) mit ihrer plethysmographischen Versuchsanordnung am Menschen keine Gefäßwirksamkeit (Aescindosis = 100 mg oral).

Die plethysmographischen Druck-Volumendiagramme werden am Oberschenkel von liegenden Personen aufgestellt. Durch eine Staumanschette wird eine durch venöse Drucksteigerung bedingte Volumenzunahme der Extremität erreicht. Diese wird mit Segmentplethysmographen am größten Wadenumfang gemessen. Eine Abnahme der venösen Kapazität wird als erhöhter Venentonus gedeutet (Nehring 1966).

Remien und Mitarbeiter (1974) fanden in Perfusionsversuchen am Hinterlauf der Katze nach intravenöser Roßkastanienextraktinjektion (3, 5 - 10,6 mg/kg) keine venentonisierende Wirkung.

Lochs und Mitarbeiter (1974) fanden an durchströmten Venenstücken des Menschen keine sichere tonisierende Aescinwirkung (5 - 50 mg/ml). Ab Aescindosierungen von 0,1 mg/ml ermittelten sie eine irreversible Kontraktion, die sich nicht von der durch andere Saponine bewirkte Reaktion unterschied.

4.4 Hypothesen über den Wirkungsmechanismus von Aescin.

Gesicherte Erkenntnisse über den Wirkungsmechanismus stehen noch nicht zur Verfügung. Siering (1962) stellte an Zellen des Ehrlich'schen Mäuse-Ascites-Carcinoms unter dem Einfluß des Aescins morphologische Veränderungen fest. Zuerst nimmt die Zellgröße durch einen vermehrten K^+ -Austritt ab, dann durch Na^+ -Einstrom zu. Der Autor schloß daraus, daß bei den therapeutischen Aescindosen die Zellen in einem Stadium verharren, in dem ihre Membran wohl für K^+ permeabel ist, jedoch noch nicht für Natrium. Als Folge davon entquillt das Gewebe.

Einen weiteren Versuch, den Wirkungsmechanismus zu erklären haben Vogel et al. (1970) unternommen. Sie stellen die Hypothese auf, daß Aescin Zahl und/oder Durchmesser der kleinen Kapillarwandporen, durch die der Austausch von Wasser erfolgt, reduziert. Das Aescin soll sich an die Poren anlagern und sie teilweise verkleben.

Eine andere Vorstellung über den Abdichtungseffekt haben Kreysel et al. (1983). Die Autoren nahmen eine von Clara (1953) entwickelte Arbeitshypothese auf, wonach ein gitterartiges Gerüst aus hochmolekularen Protein-Mucopolysacchariden das morphologische Substrat der Kapillarpermeabilität darstellen soll, welches als ein Molekularsieb fungiert, durch das nur Moleküle bis zu einer bestimmten Größenordnung hindurchtreten können (Hammersen 1983 b). Die Mucopolysaccharide unterliegen einem Turnover, wobei lysosomale Enzyme ihren stufenweisen Abbau katalysieren (Buddecke und Kresse 1969). Im Rahmen der biochemischen Untersuchungen ergab sich, daß die Aktivität dreier lysosomaler Enzyme, β -Glucuronidase, β -N-acethylhexosaminidase und Arylsulfatase nach 12tägiger oraler Medikation mit 3 x 50 mg Aescin/d (in Form von Roßkastanienextrakt) bei 10 varikösen Patienten, deren Serumaktivität lysosomaler Enzyme erhöht war, um 30 % gesenkt wurde (Enghofer et al. 1983). Die Autoren nehmen einen Mechanismus an, der in einer Hemmung des Austritts der proteoglykanabbauenden Enzyme aus den Lysosomen zu sehen ist. Dies könnte durch eine Stabilisierung der lysosomalen Membran erreicht werden. Durch diese Abbauhemmung der Mucopolysaccharidbausteine soll der Abdichtungseffekt des Aescins zustande kommen. Demzufolge sollen die Endothelzellen fester aneinandergefügt werden, wodurch die Kapillarwand gleichzeitig widerstandsfähiger gegen Zug- und Druckbelastungen wird.

III EIGENE UNTERSUCHUNGEN - METHODIK

1. Ödemversuch am Hinterlauf der narkotisierten Katze

Die Versuche wurden an 5 männlichen und 15 weiblichen Hauskatzen mit einem Gewicht von 1.9 - 3.6 kg durchgeführt. Zur Narkose erhielten die nüchternen Tiere über eine Magensonde 60 mg/kg Körpergewicht Chloralose. Nach ca. einer Stunde war ein ausreichend tiefes Narkosestadium erreicht. Bei zwei Tieren wurde zusätzlich mit 5 mg/kg Ketanest der Übergang zum Toleranzstadium beschleunigt. Die Dauer der Narkose hielt während des ganzen Versuches (max.6 Std.) an.

Um die Tiere vor Auskühlung zu schützen, lagen sie auf einem 37°C warmen OP-Tisch und wurden nach der Präparation mit einer Wärmelampe bestrahlt.

Bei Beginn des Versuches wurde der Hämatokrit gemessen und die pH-.pCO₂-.pO₂-Werte im arteriellen Blut mit dem ALV-Gascheck überprüft und nach Bedarf mit Natriumbicarbonat korrigiert. Die Blutgerinnung wurde mit Heparin unterdrückt. Zu diesem Zweck wurden die PVC-Schläuche mit den Kanülen zum Einbinden in die Gefäße mit Thrombophob, (1:10 verdünnt mit physiologischer Kochsalzlösung), luftfrei gefüllt (entspricht 2000 USPE Heparin/kg).

Präparation und Versuchsanordnung

Die beiden Hinterextremitäten wurden geschoren. An der jeweils medialen Seite wurde ein 6 cm langer Hautschnitt vom oberen Schenkeldreieck an nach distal angelegt. Die dabei eröffneten Hautgefäße wurden unterbunden.

Das linke Bein diente als Kontrollbein und blieb während des ganzen Versuches physiologisch durchblutet. Hier wurde nur die Vena femoralis auf eine Länge von 2 - 3 cm freigelegt und ein PVC-Schlauchring eingebunden, an dem ein T-Stück mit Hahnkanüle angebracht war, welches der Blutentnahme und der intravenösen Applikationen diente. Am rechten Bein, dem sogenannten Ödembein, wurden die Vasa femoralia vom oberen Schenkeldreieck bis zur A. und V. saphena, sowie der Nervus femoralis freipräpariert.

Alle erreichbaren Seitenäste der Vasa femoralia dextr. wurden unterbunden.

Der Nervus ischiadicus wurde von lateral dargestellt, damit er beim späteren Abschnüren der gesamten rechten Beinmuskulatur nicht verletzt wird.

Unterhalb des Kehlkopfes wurde nach einem medianen Hautschnitt und nach stumpfem Durchtrennen der langen Zungenbeinmuskeln die Trachea eröffnet und eine spezielle Glaskanüle eingebunden, an der ein Thermistor zur Registrierung der Atmung angeschlossen wurde. Somit konnten die Tiere bei Bedarf abgesaugt und mittels Atempumpe künstlich beatmet werden.

Sowohl in die A. femoralis dextr., als auch in die V.femoralis dextr. wurden jeweils eine Kanüle herzwärts und eine Kanüle zehenwärts eingeführt. Ein PVC-Schlauchsystem verband die Kanülen so, daß das arterielle Blut vom Herzen kommend in den PVC-Schlauch strömte, über eine Rollenspumpe geleitet wurde und dann wieder distal ins Bein abfloß. Vor der Rollenspumpe war über ein T-Stück ein Manometer zur Messung des Blutdruckes angeschlossen (Abb.2: a). Hinter der Rollenspumpe war ein Druckkopf zur Registrierung des Perfusionsdruckes hinzugeschaltet. Der nächste seitständige Anschluß des PVC-Schlauchringes diente als Applikationsschlauch für die sogenannte Schädigungsphase (siehe Abb.2: b).

Das venöse, aus dem Bein kommende Blut, wurde ebenfalls über ein PVC-Schlauchringsystem geleitet. Das Blut gelangte über ein Überlaufgefäß mit angeschlossenem Volumeter zur Rollenspumpe, von dieser dann zurück in die V.femoralis und damit in den großen Kreislauf. Vor der Abzweigung zum Überlaufgefäß war ein Manometer zur Messung des Venendruckes angeschlossen und eine Seitenabzweigung zum Auffangen der Lösungen während der Schädigungsphase angebracht (siehe Abb. 2: c).

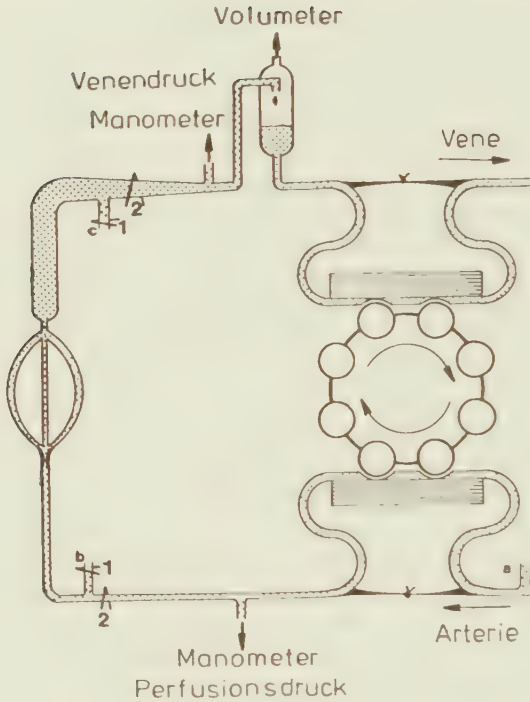


Abb. 2: Versuchsanordnung für den Ödemversuch an der Hinterextremität der narkotisierten Katze.

a: Manometer Blutdruck

b: Applikationsschlauch für die Schädigung

c: Auffangsschlauch während der Schädigungsphase

1: Klemmen während der normalen Blutperfusion

2: Klemmen während der Schädigungsphase

Strömungskonstante Perfusion

Die Rollenpumpe erzeugte einen pulsierenden aber insgesamt konstanten Blutfluß. Der arterielle Zu- und der venöse Abfluß des Blutes waren konstant. Die Perfusionsstärke wurde so eingestellt, daß der Perfusionsdruck dem Wert des Blutdruckes gleichkam. Dieser Druckwert wurde bei einer Durchflußmenge von ca. 8.3 ml Blut/min. erreicht.

Widerstandsänderungen der peripheren Gefäße gingen somit zwangsläufig mit einer Veränderung des Perfusionsdruckes einher; und zwar in der Weise, daß eine Erhöhung des Widerstandes der peripheren Gefäße zu einer Steigerung des Perfusionsdruckes führte. Das Blutvolumen des Überlaufgefäßes gab Auskunft über den Venentonus und über den transkapillären Flüssigkeitsaustausch. So vermehrten eine Erhöhung des Venentonus oder eine Nettoresorption das Volumen, eine Venendilatation oder eine Nettofiltration verminderten das Volumen in dem Überlaufgefäß (Felix et al. 1971).

Bis zur Schädigungsphase herrschte ein isovolumetrischer Zustand. Dafür wurde das Überlaufgefäß auf derjenigen Höhe fest angebracht, bei der sich Filtration und Resorption das Gleichgewicht hielten.

Mit dem Abschnüren der gesamten rechten Beinmuskulatur mittels zweier Kabelbinder medial und lateral der Einbindestelle der Meßstrecken wurde der Kollateralkreislauf ausgeschaltet. Es blieben lediglich die eingebundenen Femoralgefäße, der Nervus femoralis und der Nervus ischiadicus ausgespart. Eine exakte Messung der Filtrations- bzw. der Resorptionsrate war somit möglich

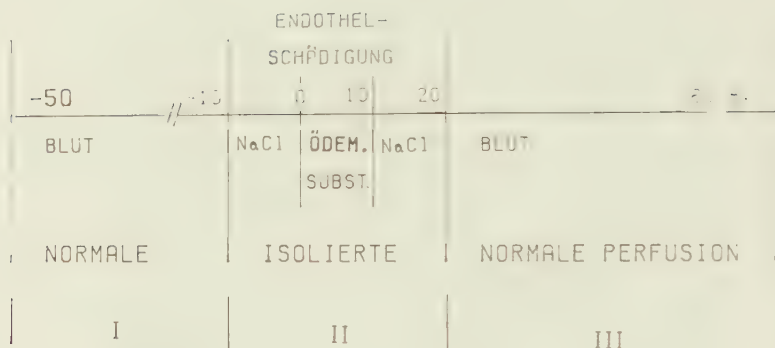


Abb.3:

Zeitliche Versuchseinteilung am perfundierten Hinterlauf der Katze. Der Abschnitt I konnte je nach Gewicht der Tiere unterschiedlich lang sein. Vom Beginn der Endothelschädigung an (= Zeit 0) wurden die Zeiten genau eingehalten.

Der Versuchsablauf läßt sich in drei Abschnitte unterteilen (siehe Abb.3), deren Zeiteinteilung bei allen Versuchen genau festgelegt war.

Im Abschnitt I wurde immer mit Blut perfundiert. Dabei wurde 5 Minuten nach Versuchsbeginn (entspricht in Abb.3 ca. -45 min.) 3 ml venöses Blut entnommen und mit Hilfe der Biuret-Methode das Gesamteiweiß bestimmt (Merckotest). Zusätzlich diente das Plasma als Kontrollwert für die später entnommenen mit Evansblue gefärbten Plasmaproben.

15 Minuten nach Versuchsbeginn ($\hat{=}$ ca.-35 min.) wurde in die Vena femoralis sinistra eine 2%ige Evansbluelösung mittels einer Infusionspumpe appliziert. Die Dosis dieses Farbstoffes betrug 50 mg/kg KG bei einer Infusionsstärke von 0,5 ml/min.. Mit der daraus resultierenden Blutspiegelkonzentration von etwa 0,05% erreichte man eine nahezu vollständige Eiweißbindung (96%). Somit diente das Evansblue als Indikator für die nach der Endothelschädigung ins Gewebe übergetretenen Plasmaproteine. 10 Minuten ($\hat{=}$ ca. -15 min.) nach der Farbstoffinfusion wurden 2 ml venöses Blut entnommen.

Der Abschnitt II wurde als Schädigungsphase bezeichnet. Hier wurde das Gefäßendothel geschädigt und somit ein Ödem erzeugt. Dafür wurde die Perfusion mit Blut unterbrochen, indem die Rollpumpe abgeschaltet wurde. Am arteriellen PVC-Schlauchring wurde die Blutzufuhr abgeklemmt und gleichzeitig eine Klemme am venösen PVC-Schlauchring hinter dem Auffangschlauch gesetzt (siehe Abb.1, Klemmen 2), um ein Abfließen der Substanzen in den großen Kreislauf und somit eine systemische Wirkung zu verhindern. Polidocanol schädigt das Gefäßendothel direkt und nicht über eine entzündliche Reaktion (Hammersen et al. 1983, b). Danach wurden 40 - 50 ml einer isotonen Natriumchloridlösung mit einem Druck von 0,5 atm in den arteriellen PVC-Schlauch geschickt, um das Blut aus der Extremität auszuwaschen, welches auf der venösen Seite durch den Auffangschlauch lief und somit dem Tier reinjiziert werden konnte. Anschließend wurden 50 ml einer 0,025%igen Polidocanolösung mit einer Fließgeschwindigkeit von 5 ml/min. zur Endothelschädigung infundiert. Der Beginn der Polidocanolinfusion wurde als Zeit 0 festgesetzt.

Zum Auswaschen der schädigenden Substanz wurden nochmals 50 ml isotone Kochsalzlösung mit der-
selben Fließgeschwindigkeit von 5 ml/min. infundiert.
Die Lösungen wurden jeweils auf der venösen Seite
durch den Auffangschlauch herausgeleitet, abgemessen
und verworfen. Somit war sichergestellt, daß die
schädigende Substanz nicht in den Kreislauf gelangen
konnte. Daraufhin wurden die zwei Klemmen, die das
Bein von normalen Kreislauf unterbrochen hatten,
entfernt.

Im Abschnitt III wurde die Perfusionspumpe wieder ein-
geschaltet und mit Blut noch genau 45 Minuten per-
fundiert. Das Versuchsende war somit in der 65 Minute
nach Beginn der Endothelschädigung erreicht.
Die Tiere wurden getötet und die Gewebeproben
entnommen. Dafür wurde dem Ödem- und Kontrollbein
säuberlich die Haut abgetrennt und Muskelpartien aus
den Hinterbackenmuskeln, aus dem M.sartorius, dem
M.quadriceps femoris, sowie aus der cranialen und
kaudalen Unterschenkelmuskulatur entnommen. Die
Hautproben wurden in 5 mm breite Streifen geschnitten.
Die Muskelproben wurden in einem Mixer püriert.
Die Proben dienten zur Bestimmung des Flüssigkeits-
und Eiweißgehaltes im Gewebe.

Auswertung der Meßdaten

Der Blutdruck wurde als mittlerer Blutdruck nach
der Formel

$$\frac{p_{\text{ syst.}} + 2 p_{\text{ diast.}}}{3}$$

berechnet (Gauer et al. 1972).

Der Perfusionsdruck ist als mittlerer Druck ange-
geben.

Bei den Ergebnissen entspricht 1 mm Hg = 133,32 Pascal.

Kapilläre Filtrationsrate:

Im Überlaufgefäß herrschte bis zur Endothelschädigung ein isovolumetrischer Zustand, d.h. bei vorgegebener Durchflußstärke blieb das Volumen der Überlaufkammer konstant. Volumenabnahmen nach der Schädigungsphase durch Nettofiltration ins Gewebe wurden mit einem Volumeter gemessen und sind in ml/min. bezogen auf 100 g Gewebe angegeben.

Berechnung von Ödemflüssigkeit und Ödemeiweiß

Ödemflüssigkeit

Von den entnommenen Haut und Muskelproben des Kontroll- und Ödembeines wurden genau abgewogene Mengen (ca. 5 g Haut und 30 g Muskelgewebe) über Nacht bei 120°C getrocknet. Anschließend wurde das Trockengewicht bestimmt, nach der Formel

$$\text{Wassergehalt der Proben} = \frac{c_1 - c_2}{c_2} \text{ ml/g Trockengewebe}$$

c_1 : Probengewicht vor Trocknung

c_2 : Probengewicht nach Trocknung

dabei wurde vorausgesetzt, daß 1 ml Wasser 1 g wiegt.

Das Ödemwasser errechnete sich aus der Differenz zwischen dem Wassergehalt des Ödembeines und dem Wassergehalt des Kontrollbeines bei Haut und Muskulatur.

Ödemeiweiß:

Die Konzentration der mit Evansblue markierten Plasmaproteine wurde nach der von Beach und Steinetz (1961) angegebenen Methode bestimmt. Die Haut- und Muskelproben wurden in rauchende Salzsäure eingewogen und über Nacht zersetzt. Dann wurde 10 %iges Zephirol dazugegeben, um das Evansblue daran zu binden. Nach 10 Minuten wurde der Evansblue-Zephirol-Komplex in Chloroform ausgeschüttelt. Das Verhältnis von Salzsäure zu Zephirol zu Chloroform betrug 10 ml : 20 ml : 20 ml. Danach wurde die Chloroformphase abzentrifugiert und die Farbstoffkonzentration bei 620 nm gegen reines Chloroform mit einem Photometer (Fa. K. Zeiss) gemessen. Um vom Farbstoffgehalt auf die Proteinmenge schließen zu können, mußte der Eiweiß- und Evansbluegehalt des Plasmas bekannt sein. Dieser Bestimmung dienten die drei entnommenen Blutproben, die zentrifugiert wurden. Dann wurden 0,1 ml Plasma in rauchende Salzsäure pipettiert und weiterhin wie bei den Haut- und Muskelproben verfahren, jedoch mit dem Verhältnis Salzsäure zu Zephirol zu Chloroform wie 2:4:4. Von jeder Plasmaprobe wurden je drei gemessene Extinktionen gemittelt.

Berechnung der Extinktion von 1 mg Protein in 1 ml Chloroform (= E_0):

$$E_0 = \frac{(E_2 - E_1) \times 0.96 \times 4}{G}$$

E_2 : Extinktion des Plasmas nach Evansbluegabe

E_1 : Extinktion des Plasmas vor Evansbluegabe

0.96: entspricht der 96 %igen Bindung des Evansbluefarbstoffes an die Proteine

4: Extraktion erfolgt in 4 ml Chloroform, in 1 ml ist die Extinktion deshalb viermal höher

G: Eiweißkonzentration des Plasmas in g/100 ml, bestimmt durch die Biuretmethode.

Berechnung des Proteingehaltes der Probenextraktion in
1 ml Chloroform = P:

$$P = \frac{E}{E_0} \times CL$$

P: Proteingehalt

E: gemessene Extinktion der Probe

E₀: Extinktion von 1 mg Protein in 1 ml Chloroform

CL: aktuelle Chloroformmenge

Berechnung des Proteingehaltes/g Trockengewebe = $\frac{P}{T}$:

$$T = F \times \frac{C_2}{C_1}$$

T: Trockengewicht der Probe für die Extinktion

F: Feuchtgewicht der Probe für die Extinktion

C₁: Probengewicht vor Trocknung

C₂: Probengewicht nach Trocknung

Geräte

- a) Atemthermistor nach Felix (Felix 1962)
- b) Schlauchpumpe, Ismatec SB-5
- c) Infusionspumpe, Fa. Braun, Melsungen
- d) 6-Kanalschreiber, Fa. Schwarzer, München
- e) Kristallmembranometer, Fa. Hansen, Kopenhagen
- f) Photometer PMQ 3, Fa. Karl Zeiss
- g) Commodore CBM 8032
- h) AVL-Gas Chek 939

Substanzen

- a) Polidocanol (AETHOXYSKLEROL) Kreussler
- b) Chloralose, Merck
- c) Evansblue, Merck
- d) α - Aescin, Klinge
- e) Ketanest 50 mg/ml, Parke-Davis
- f) Natriumhydrogencarbonat 8,4 %, Delta Pharma
- g) Heparin-Natrium, Braun
- h) Ty-Rap Cable Tied, Thomas u. Betts
- i) Gesamteiweiß, Merckotest Biuret-Methode, Merck
- j) NaCl-Lösung 0,9 %, Braun

2. Versuche an isolierten Meerschweinchenkarotiden

Der protektive Effekt von Aescin gegenüber der schädigenden Wirkung von Polidocanol wurde parallel zu den in situ Versuchen an Katzen auch an isolierten Meerschweinchengefäßen geprüft. Dafür wurden 74 männliche Meerschweinchen mit einem Gewicht von 350 - 650 g mit Nembutal 4 mg/100g KG (das Nembutal wurde mit isotoner Kochsalzlösung auf 20 mg/ml vorverdünnt) intraperitoneal narkotisiert.

Präparation und Versuchsanordnung

Bei den Meerschweinchen wurde die Arteria carotis communis beiderseits der Trachea freigelegt und je ein ca. 2 cm langes Segment herausgenommen. Eventuelle Abgänge wurden unterbunden. An beiden Enden der Karotidenabschnitte wurden kleine, speziell angefertigte Kanülen eingebunden und an einer speziellen Halterung auf einen Tonus von 5 - 15 mmHg gespannt. Die Gefäßpräparate wurden nach der Methode von De la Lande et al. (1966) in einem Organbad so fixiert, daß sie außen von einer Krebs-Henseleit-Lösung (37° C) umspült, sowie innen mit Krebs-Henseleit-Lösung perfundiert werden konnten, ohne daß beide Milieubereiche miteinander in Kontakt kamen. Die Krebs-Henseleit-Lösung des Organbades wurde mit Carbogen durchperlt (Abb. 4).

Diese Methode ermöglicht im Gegensatz zu der sonst angewandten Methode mit spiralig aufgeschnittenen Arterien eine Trennung von intravasaler und extravasaler Applikationsform. Das Endothel der Gefäße blieb weitgehend unversehrt (De la Lande, Rand 1965).

Die Krebs-Henseleit-Lösung wurde über PVC-Schläuche und mittels einer Rollenpumpe durch die Gefäße perfundiert. Die Durchflußmenge wurde dabei mit 2,5 ml/min. konstant gehalten. Tonusänderungen der Gefäßpräparate wirkten sich deshalb in einer Änderung des Perfusionsdruckes aus (strömungskonstante Messung). Der Perfusionsdruck wurde mit einem zwischen Rollenpumpe und Gefäß angebrachten Manometer gemessen und von einem Schreiber aufgezeichnet.

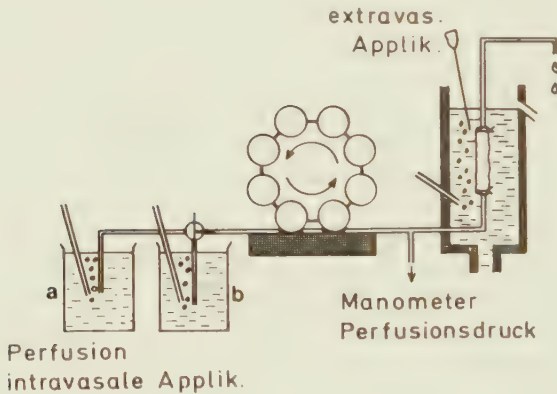


Abb. 4: Versuchsanordnung der perfundierten, isolierten Meerschweinchenkarotiden.

a = Pharmakonlösung

b = Krebs-Henseleit-Lösung

Die Reaktivität der Gefäße wurde 45 Minuten nach deren Einbringen in das Gefäßbad getestet. Dazu wurde Adrenalin 10^6 und 10^5 mol/l nacheinander jeweils intravasal und extravasal appliziert. Die durch das Adrenalin hervorgerufene Kontraktion diente als Maß für den Zustand der Muskelzellen. Der Zustand des Gefäßendothels wurde mit intravasal applizierten Acetylcholin (ACh) überprüft. Nach Furchgott und Zawadski (1980) wirkt ACh an Arterien nur dann dilatierend, wenn ein intaktes Gefäßendothel vorhanden ist. An der Gefäßinnenwand sitzen Endothelrezeptoren, welche die ACh-Dilatation auslösen. Sind diese Endothelrezeptoren z.B.durch Zerstörung des Endothels nicht mehr vorhanden, kann durch ACh keine Dilatation ausgelöst werden.

Bei den isolierten Gefäßpräparaten konnten Dilatationen nur erkannt werden, wenn die Gefäße einen gewissen Tonus besaßen. Deshalb wurden die Gefäße mit extravasal appliziertem Adrenalin kontrahiert. Die mit dem Schreiber aufgezeichnete Adrenalin-Kontraktionskurve stieg zunächst steil an, wurde dann immer flacher und erreichte schließlich ein maximales Plateau. War dieses Plateau erreicht, applizierten wir intravasal Acetylcholin, worauf die Gefäße bei intaktem Endothel dilatierten.

Versuchsablauf zur protektiven Aescinwirkung an Karotiden

Nach 45 Minuten Eingewöhnungszeit wurde der Zustand der Muskelzellen je zweimal mit Adrenalin 10^{-6} und 10^{-5} mol/l nacheinander sowohl intravasal als auch extravasal überprüft. Gleichzeitig wurde der Endothelzustand durch Acetylcholin 10^{-6} mol/l getestet. Danach wurden bei 11 Versuchen die Gefäße mit Aescin 0.0025 %ig und 0.005 %ig 20 Minuten lang perfundiert. Ab der 7. Minute wurde zusätzlich die Noxe Polidocanol (0.025 %ig) dazugegeben, die bis zur 20. Minute, also 13 Minuten lang mitlief. Daraufhin wurden die Gefäße wieder mit Krebs-Henseleit-Lösung durchströmt. Das Ausmaß der Gefäßschädigung und die Fähigkeit des Aescins, die Beeinträchtigung der Kontraktilität abzuschwächen, wurde durch nochmalige Gabe von Adrenalin und Acetylcholin in gleicher Weise wie vor der Schädigung überprüft.

Bei 11 Versuchen erhielten die Meerschweinchen 0.01 mg/100 g KG Aescin intraperitoneal 18 Stunden vor Entnahme der Karotiden. Im Versuch wurde dann kein Aescin perfundiert, es wurde nur mit der Noxe 13 Minuten lang geschädigt.

Als Kontrollgruppe dienten 9 Versuche, bei denen kein Aescin appliziert wurde. Auch hier wurde die Reaktivität der Gefäße auf Adrenalin und Acetylcholin vor und nach der Polidocanolperfusion verglichen.

Versuchsablauf zur Aescinwirkung am Gefäßendothel

Dafür wurde Aescin in Krebslösung zu 0.0025 % und zu 0.005 % gelöst. Diese Aescinkonzentration ließ man zum Teil intravasal und zum Teil extravasal 15 Minuten auf die Gefäße einwirken.

Als Indikator für den Endothelzustand der Gefäße vor und nach Aescingabe diente wiederum die Gefäßreaktion auf Acetylcholin (10^{-6} mol/l intravasal). Um eine endothelabhängige Wirkung des Aescins zu erforschen, wurde das Gefäßendothel mit verschiedenen Substanzen (Polidocanol 0,025 % 13 Minuten intravasal, Etacrynsäure 0,1 % 10 min. intravasal und Aqua bidest 4 min. intravasal) geschädigt. Die Acetylcholinreaktion diente auch hier als Maß für die Schädigung.

Zur Untersuchung der nachzuweisenden Gefäßtonisierung durch Aescin applizierten wir Nitroprussidnatrium, Verapamil als Calcium-Antagonist und einen α -Blocker. Der Einfluß von Atropin auf die intravasale Gefäßwirkung von Acetylcholin und Aescin wurde ebenfalls untersucht.

Geräte

- a) Kristallmembranometer, Fa. Hansen, Kopenhagen
- b) Schreiber, Fa. BBC Goerz, Typ Servogor 960
- c) Schlauchpumpe Ismatec IP - 4, Zürich
- d) Computer Commodore CBM 8032

Substanzen

- a) Polidocanol (Aethoxysklerol) Kreussler
- b) Atropin sulfur. 0,0025 %, Frensenius
- c) Nembutal, Ceva
- d) Nipruss, Pharma Schwarz
- e) Phenylamin (Regitin) Ciba
- f) Verapamil (Isoptin), Knoll
- g) Suprarenin, Hoechst
- h) α -Aescin, Klinge
- i) Acetylcholinum ophthalmicum. Dispersa

j) Aqua bidest

k) Etacrynsäure (Hydromedin) MSD-Pharma

l) Krebs-Henseleit-Lösung:

6,91 g NaCl

0,35 g KCl

0,144 g Mg SO₄

0,296 g Mg SO₄ x 7 H₂O

0,163 g KH₂PO₄

0,277 g CaCl₂

2,1 g NaHCO₃

2,2 g Glucose

0,055 g Pyruvat

0,026 g Ca-Titriplex, auf einen Liter Aqua bidest

Statistische Auswertung

Zur statistischen Sicherung der Ergebnisse wurde der Student-t-Test zum Vergleich zweier Mittelwerte angewandt. In den Versuchen, in denen die Versuchspräparate ihre eigene Kontrolle mit darstellten, konnten die Ergebnisse mit Hilfe des gepaarten t-Tests ermittelt werden (Clauß, Ebner 1975).

Signifikanz war gegeben bei $p < 0,05$

in den Tabellen steht * für $p < 0,05$

** für $p < 0,01$

*** für $p < 0,001$

Der mittlere Fehler des Mittelwertes (Standarderror) wurde nach folgender Formel berechnet (Clauß, Ebner 1975)

$$s_{\bar{x}} = \frac{s_x}{\sqrt{n}}$$

$s_{\bar{x}}$ = Standardabweichung des Mittelwertes

s_x = Standardabweichung in der Grundgesamtheit

n = Umfang jeder Stichprobe

IV. ERGEBNISSE

1. Wirkung von Aescin auf das Polidocanolödem am Hinterlauf der Katze.

Kontrollen

6 Katzen erhielten 14 Tage normales Futter, ihnen wurde kein Aescin verabreicht, sie dienten als Kontrollgruppe. Im Versuch wurde nun künstlich ein Ödem mit dem Sklerosierungsmittel Polidocanol erzeugt. Innerhalb der nachfolgenden 65 Minuten Versuchsdauer kam es zu einer gesteigerten Filtration, es entstand ein Ödem.

Da während der Schädigungsphase nur wässrige Lösungen die Gefäße durchströmten, filtrierte zuerst Wasser durch die geschädigte Kapillarmembran in das Gewebe, bis der daraus resultierende ansteigende hydrostatische Gewebedruck der Nettofiltration entgegenwirkte.

20 Minuten nach Beginn der Endothelschädigung wurde wieder mit Blut perfundiert. Von diesem Zeitpunkt an konnten Eiweißmoleküle in das Gewebe übertreten.

Wie aus Tabelle 1 ersichtlich ist, betrug der Gehalt an Ödemprotein in der Haut $3,04 (\pm 0,77)$ mg/g Trockengewebe im Muskel $10,45 (\pm 1,03)$ mg/g Trockengewebe.

Tabelle 2 zeigt den Gehalt an Ödemwasser, er betrug in der Muskulatur $1,27 (\pm 0,16)$ ml/g Trockengewebe, in der Haut $0,71 (\pm 0,17)$ ml/g Trockengewebe. Der mit der Ausbildung des Ödems steigende interstitielle hydrostatische Druck erhöhte den isogravimetrischen Kapillardruck sowie den prä- und postkapillären Strömungswiderstand, damit mußte der Perfusionsdruck ansteigen (Abb. 7 - 10).

Verumversuche

Je 6 Katzen wurden 14 Tage mit einer täglichen Aescindosis von 0,01 mg/kg KG und 1 mg/kg KG oral vorbehandelt. Zwei Tiere erhielten 0.1 mg Aescin pro kg KG oral. Das pulverförmige α -Aescin wurde in Wasser gelöst und mittels einer 1 ml-Spritze den Katzen auf den Zungenhintergrund gegeben. Die Dosen 0.01 mg und 0.1 mg Aescin pro kg KG wurden von den Tieren problemlos geschluckt. Bei der Dosierung von 1 mg pro kg KG traten jedoch sofort starker Speichelfluß und Abwehrreaktionen auf. Deshalb wurde die Dosis von 1 mg Aescin pro kg KG den Katzen in einer Gelatine kapsel verabreicht.

1.1 Ödemproteine von Muskel und Haut

Durch Aescin konnte 65 min. nach Beginn der Endothelschädigung nur in der chronisch applizierten Dosis von 1 mg/kg KG eine signifikant ödemprotektive Wirkung in Bezug auf den Plasmaproteingehalt (= Ödemprotein) erhalten werden. Das Hautödem enthielt weniger Plasmaproteine als das Muskelödem. Die Dosen 0,01 und 0,1 mg Aescin/kg ergaben keine signifikante Verminderung von Plasmaproteinen im Ödem (Tab. 1, Abb. 5).

Tab 1: Gehalt an Ödemprotein in Haut und Muskulatur der hinteren Katzenextremität nach Endothelschädigung mit Polidocanol (0,025 %).

	n	Muskel $\bar{x}$	SE	Haut $\bar{x}$	SE
Kontrolle	6	10,45	1,03	3,04	0,77
0,01 mg/kg Aescin 14 Tg.oral	6	10,54	1,41	3,15	0,83
0,1 mg/kg Aescin 14 Tg.oral	2	9,72	0,31	1,83	0,38
1 mg/kg Aescin 14 Tg.oral	6	6,90	0,91 *	0,47	0,56 *

Die Mittelwerte ($\bar{x}$) für Haut und Muskel sind in mg Ödemprotein/g Trockengewebe angegeben. SE = Standarderror.



Abb. 5: Ödemprotektiver Effekt von Aescin.

Ödemprotein von Muskel und Haut der hinteren Katzenextremität nach Endothelschädigung mit 0,025 %igem Polidocanol.

Kontrolle und 14tägige orale Vorbehandlungen mit Aescin in den Dosierungen von 0.01 mg/Tag, 0.1 mg/kg/Tag und 1 mg/kg/Tag. Der Ödemprotektive Effekt des Aescins zeigte sich nur bei der Dosis von 1 mg/kg/Tag am signifikant geringerem Gehalt von Plasmaprotein im Muskel- und Hautödem.

1.2 Ödemwasser von Muskel und Haut

Im Gegensatz zu dem Ödemproteingehalt beeinflusste Aescin den Gehalt an Ödemwasser bei keiner Verumgruppe. Weder im Muskel noch in der Haut konnte eine signifikante Verminderung an Ödemwasser zum Zeitpunkt 65 min. nach Beginn der Endothelschädigung nachgewiesen werden.

Tab. 2: Ödemwasser in Muskel und Haut der hinteren Katzenextremität nach Endothelschädigung mit 0,025 %igen Polidocanol.

	n	Muskel		Haut	
		$\bar{x}$	SE	$\bar{x}$	SE
Kontrolle	6	1,27	0,16	0,71	0,17
0,01 mg/kg 14 Tg.oral	6	1,32	0,23	0,94	0,14
0,1 mg/kg 14 Tg.oral	2	1,05	0,1	0,51	0,15
1 mg/kg 14 Tg.oral	6	1,02	0,13	0,6	0,07

Die Mittelwerte ($\bar{x}$) für Muskel und Haut sind in ml Ödemwasser/g Trockengewebe angegeben. SE = Standarderror.

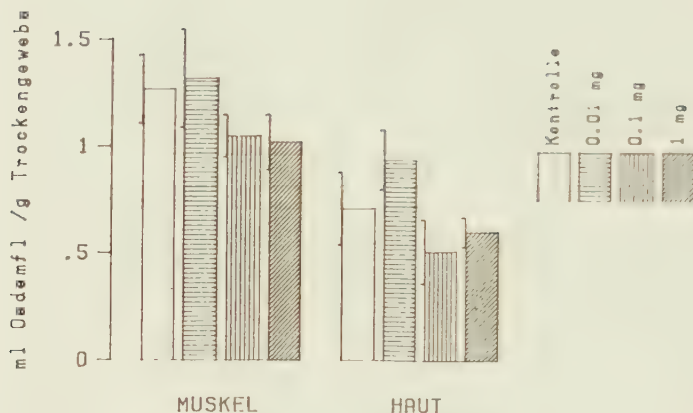


Abb. 6: Ödemflüssigkeit in Muskel und Haut der hinteren Katzenextremität nach Endothelschädigung mit 0.025 %igem Polidocanol.

Kontrolle und 14tägige orale Vorbehandlungen mit Aescin in den Dosierungen von 0.01 mg/kg/Tag, 0.1 mg/kg/Tag und 1 mg/kg/Tag. Bei keiner Dosis kam es zu einer signifikanten Verminderung des Ödemwassers, weder in der Haut noch in der Muskulatur.

1.3 Venendruck, Blutdruck und Perfusionsdruck

Bei allen Tieren zeigte der Venendruck während des ganzen Versuches nur geringe Veränderungen. Der Mittelwert lag bei 18 mmHg ($\pm 4,4$).

Der mittlere Blutdruck und der Perfusionsdruck wurden von Versuchsbeginn an in Abständen von fünf Minuten ermittelt. Die Werte sind in Abbildung 7 - 10 graphisch dargestellt.

Es ist ersichtlich, daß der Blutdruck im Abschnitt I des Versuches langsam abfiel. Im Abschnitt II und III blieb er konstant oder stieg wieder leicht an.

Der Perfusionsdruck stieg im Versuchsabschnitt I stetig an. Da während der Schädigungsphase die Rollpumpe ausgeschaltet wurde, war der Perfusionsdruck in dieser Zeit gleich null. Mit Wiedereinbetriebnahme der Rollpumpe (20 - 65 min) zeigte der Perfusionsdruck zunächst seine niedrigsten Werte, die jedoch schnell anstiegen und mit Versuchsende ihre höchsten Werte erreichten. Die Steigung nahm in der Reihenfolge 1 mg Aescin/kg KG < 0,1 mg Aescin/kg KG < Kontrollgruppe < 0,01 mg Aescin/kg KG zu.

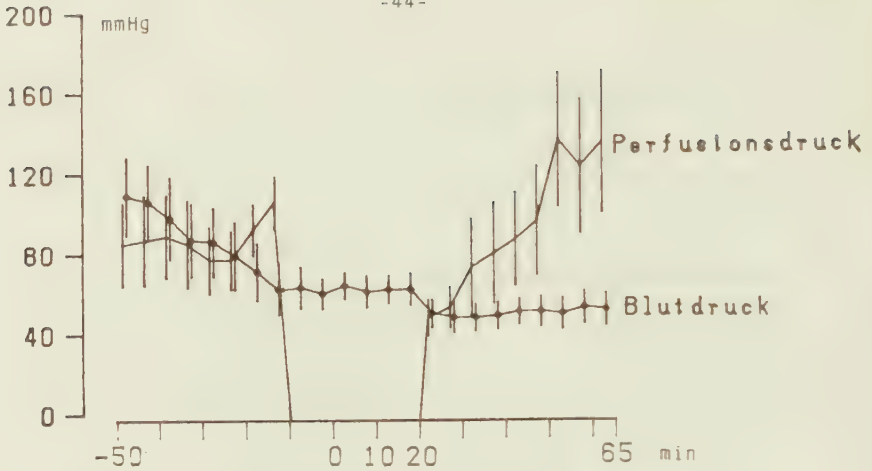


Abb. 7: Perfusionsdruck und Blutdruck

Mittelwerte mit Standarderror von Blutdruck und Perfusionsdruck der Kontrollgruppe, n=6



Abb. 8: Perfusionsdruck und Blutdruck

Mittelwerte mit Standarderror der Verumgruppe
0.01 mg Aescin/kg/d. 14 Tage oral, n=6

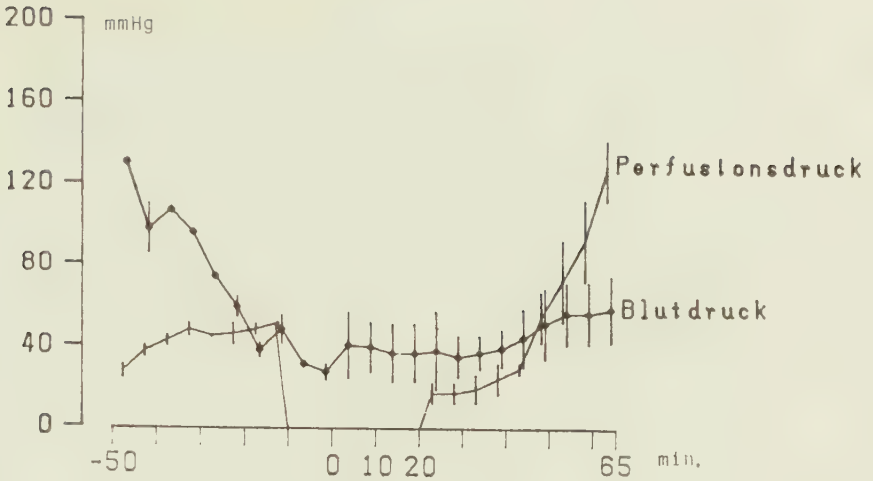


Abb. 9: Blutdruck und Perfusionsdruck
Mittelwerte mit Standarderror der Verumgruppe
0.1 mg Aescin/kg/d 14 Tage oral, n=2

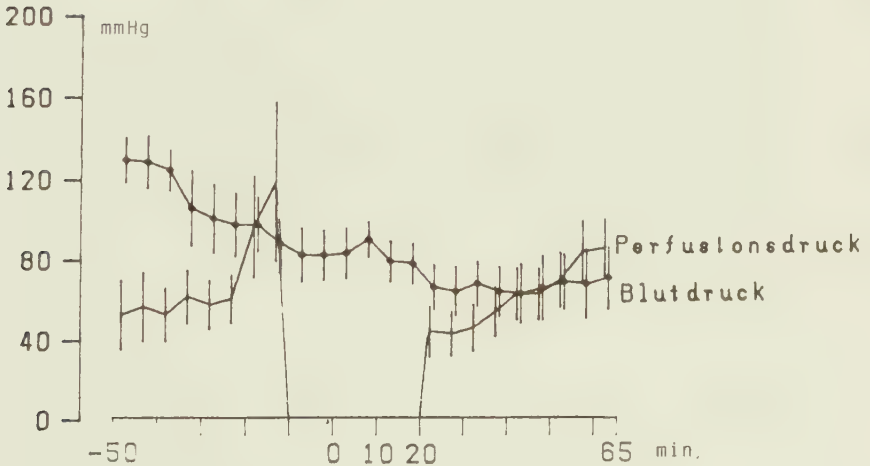


Abb. 10: Blutdruck und Perfusionsdruck
Mittelwerte mit Standarderror der Verumgruppe
1 mg Aescin/kg/d 14 Tage oral, n=6

1.4 Filtration nach Endothelschädigung

Die gesamte Filtrationsmenge (Abb.11) setzte sich zusammen aus den Flüssigkeitsmengen, die während und nach der Schädigung in das Ödem flossen. Zur Schädigung wurden die Gefäße des Ödembeines mit 50 ml Polidocanol-Lösung geschädigt und anschließend wurde mit 50 ml isotoner Kochsalzlösung die Noxe wieder ausgespült. Da diese Lösungen nach Passieren des Ödembeines aufgefangen und abgemessen wurden, konnte die Filtrationsmenge während der Schädigungsphase ermittelt werden. Die Filtrationsmenge nach der Schädigung wurde anhand der Volumenabnahme des Überlaufgefäßes, welche von einem Schreiber aufgezeichnet wurde, berechnet. Diese Werte wurden zusammengefaßt, gemittelt und auf ml/100 g Gewebe bezogen.

Nach 65 min war zwischen den Verumgruppen und der Kontrollgruppe kein signifikanter Unterschied in der gesamten Filtrationsmenge vorhanden. Jedoch zeigt sich in Tabelle 4 bei den mit Aescin behandelten Tieren die Tendenz einer dosisabhängigen Verminderung der Filtration in den ersten 20 Minuten nach Beginn der Schädigung (= Abschnitt II). Die ins Bein filtrierenden Flüssigkeitsmengen der Polidocanol- und Kochsalzlösung nahmen mit steigenden Aescindosen ab.

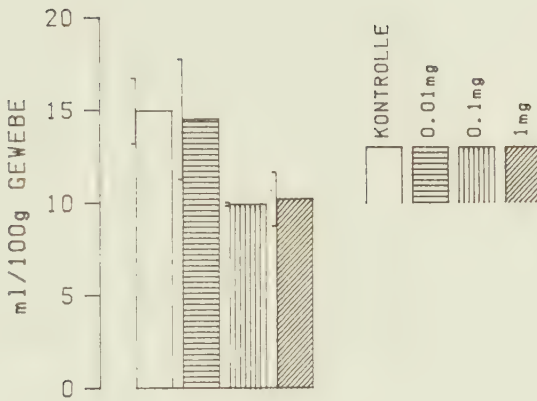


Abb. 11: Gesamte Filtrationsmenge nach der Endothelschädigung mit 0.025 %igem Polidocanol Kontrolle und 14tägige orale Aescinvorbehandlung in den täglichen Dosen von 0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg und 1 mg/kg. Die Mittelwerte sind angegeben in ml/100 g Gewebe.

Tab. 4: Gesamte Filtrationsmenge und dessen Aufgliederung nach der Gefäßschädigung mit Polidocanol (0.025 %) bei den Versuchen an der rechten Hinterextremität der Katze, nach verschiedener oraler Vorbehandlung mit Aescin.

	n	$\bar{x}$ Gesamte Filtr.menge	(SE)	$\bar{x}$ ins Bein filtr. Polidocanol 0' - 10'	(SE)	$\bar{x}$ ins Bein filtr. NaCl 10' - 20'	(SE)	$\bar{x}$ Filtr.menge 20' - 65'	(SE)
Kontrolle	6	14,98	(1,77)	4,17	(0,89)	5,80	(1,1)	5,01	(0,89)
0,01 mg/kg Aescin 14 Tg. oral	6	14,55	(3,26)	3,49	(1,01)	6,03	(1,35)	5,03	(1,93)
0,1 mg/kg Aescin 14 Tg. oral	2	9,95	(0,09)	2,61	(0,61)	3,94	(0,07)	3,4	(0,7)
1 mg/kg Aescin 14 Tg. oral	6	10,22	(1,45)	2,17	(0,52)	3,32	(1,05)	4,73	(1,45)

Die Mittelwerte ($\bar{x}$) sind in ml/100 g Gewebe angegeben. SE = Standarderror.

Nach Beendigung der Endothelschädigung lief der Versuch noch 45 Minuten. Die geschädigten Kapillaren ließen vermehrt Flüssigkeit ins Gewebe austreten, die Filtrationsrate stieg an. Die Tabelle 5 zeigt, daß im Versuchsabschnitt III (20.-65. min) kein wesentlicher Unterschied in Bezug auf die Filtrationsmenge zwischen Kontrollgruppen und Verumgruppen lag. (Abb. 12)

Tab. 5: Filtration nach verschiedenen Zeitabschnitten nach der Endothelschädigung mit Polidocanol (0.025 %) am rechten Hinterlauf der Katze.

	n	$\bar{x}$ Filtr.menge 20' - 30'	$\bar{x}$ Filtr.menge 20' - 40'	$\bar{x}$ Filtr.menge 20' - 50'	$\bar{x}$ Filtr.menge 20' - 65'
Kontrolle	6	1 (0,2)	1,87 (0,38)	3,0 (0,59)	5,01 (0,89)
0,01 mg/kg Aescin 14 Tg.oral	6	0,78 (0,52)	1,57 (0,94)	3,24 (1,13)	5,03 (1,93)
0,1 mg/kg Aescin 14 Tg.oral	2	0,66 (0,36)	1,39 (0,33)	2,22 (0,42)	3,4 (0,7)
1 mg/kg Aescin 14 Tg.oral	6	0,72 (0,34)	1,78 (0,74)	2,96 (1,06)	4,73 (1,45)

Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) der Filtrationsmengen umgerechnet auf ml/100 g Gewebe, mit Standarderror ().

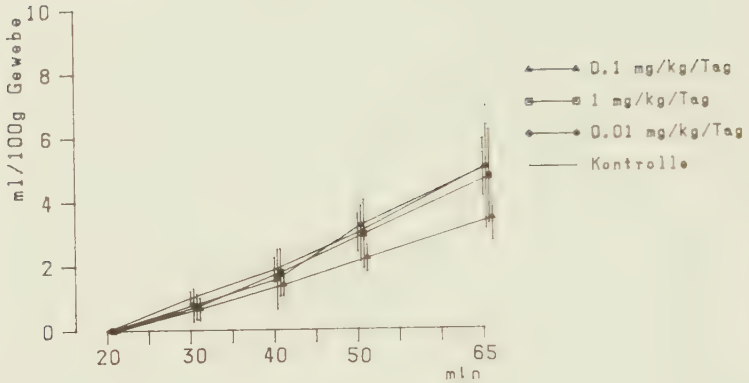


Abb. 12: Einfluß der verschiedenen Aescindosierungen auf die Filtration von der 20. bis 65. Minute nach Endothelschädigung.

Endothelschädigung mit Polidocanol (0.025 %)

Mittelwerte in ml/100 g Gewebe, mit Standarderror.

Bei den 14tägigen Medikationen von täglich 1 mg/kg und 0.01 mg/kg KG Aescin zeigten die Filtrationsmengen keinen Unterschied zu denen der Kontrolltiere. Eine geringere Filtrationsmenge zeigte nur die Versuchsgruppe mit einer Aescinvorbehandlung von 0.1 mg Aescin pro kg KG

Filtrationsstärke

Um festzustellen, ob das Wasser nach der Gefäßschädigung bei den Aescin vorbehandelten Tieren mit gleicher Geschwindigkeit oder langsamer als bei den unbehandelten Tieren ins Ödem einströmt, wurde in der 30., 40. und 55. Minute nach Beginn der Endothelschädigung die Stärke der Filtration gemessen, gemittelt und auf ml/min/100 g Gewebe umgerechnet. Wie aus der Abbildung 13 ersichtlich ist, war nur bei der Medikationsgruppe von 0,1 mg Aescin/kg KG die Filtrationsstärke zu jedem Zeitpunkt niedriger als bei der Kontrollgruppe, während bei den Dosierungsgruppen von 0,01 mg und 1 mg Aescin/kg KG die Filtrationsstärke am Ende des Versuches sogar höher lag.

Tab. 6: Mittelwerte der Filtrationsgeschwindigkeiten.

	n	$\bar{x}$: 30.min	SE	$\bar{x}$ 40.min	SE	$\bar{x}$ 55.min	SE
Kontrolle	6	0,08	0,02	0,11	0,02	0,13	0,02
0,01 mg/kg Aescin 14 Tg.oral	6	0,07	0,04	0,09	0,04	0,17	0,04
0,1 mg/kg Aescin 14 Tg.oral	2	0,06	0,03	0,07	0,01	0,09	0,03
1 mg/kg Aescin 14 Tg.oral	6	0,11	0,04	0,12	0,04	0,15	0,04

Die Werte sind angegeben in ml/min/100 g Gewebe, gemessen in der 30., 40. und 55. Minute nach Beginn der Endothelschädigung am Hinterlauf der Katze. SE = Standarderror.

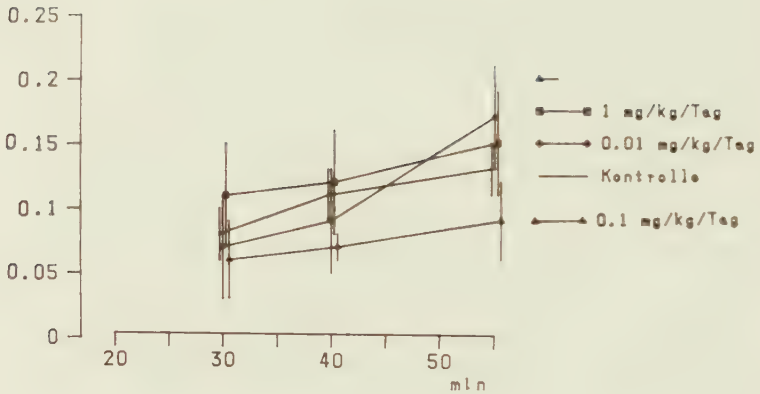


Abb.13: Einfluß der verschiedenen Aescindosierungen auf die Filtrationsgeschwindigkeit in der 30., 40. und 55. Minute nach Beginn der Endothelschädigung am Hinterlauf der Katze.
Mittelwerte in ml/min. bezogen auf 100 g Gewebe mit Standarderror.

2. Die protektive Wirkung von Aescin an isolierten Meerschweinchenkarotiden.

Es sollte nun untersucht werden, ob Aescin in der Lage ist, auch in vitro an isolierten Meerschweinchenkarotiden die schädigende Wirkung des Polidocanols abzuschwächen. Bei den isolierten Gefäßen erzeugt Polidocanol nicht

nur eine Endothelschädigung, sondern es gelangt auch zu der glatten Muskulatur der Karotiden. Mit diesen Untersuchungen sollte festgestellt werden, inwieweit Aescin nun auch einen protektiven Effekt auf die glatte Muskulatur ausübt.

Bei den Kontrollversuchen wurde nur mit Krebs-Henseleit-Lösung perfundiert. Die Endothelschädigung wurde durch 13-minütige Perfusion einer 0,025 %igen Polidocanol-Lösung erzeugt.

Bei den Verumversuchen wurden die Karotiden zu einem mit verschiedenen Aescin-Lösungen (0,005 %, 0,0025 %) 20 Minuten perfundiert, wobei die Applikation 7 Minuten vor Gabe der Polidocanol-Lösung gestartet wurde, zum anderen wurde bei 11 Meerschweinchen das Aescin 18 Std. vor der Präparation in einer Dosis von 0,1 mg/100 g KG intraperitoneal injiziert. Die Endothelschädigung erfolgte wie bei der Kontrollgruppe.

Die Schädigung der glatten Muskulatur der Karotiden wurde an der Abnahme der Adrenalin-Kontraktion gemessen. Das Adrenalin wurde sowohl intravasal als auch extravasal jeweils 10^{-6} und 10^{-5} mol/l appliziert. Dabei wurden sowohl die Anstiegssteilheit in den ersten 15 Sekunden der Kontraktion als auch der max. Kontraktionswert vor und nach der Schädigung miteinander verglichen. Die Tabellen 7 und 8 zeigen die Adrenalinwirkung vor und nach der Schädigung. Daraus ist zu ersehen, daß die Adrenalinwirkung nach der Schädigung bei den Kontrollen und bei den meisten Verumgruppen signifikant niedriger lag als vor der Schädigung. Ausnahmen waren die maximale Adrenalin-Kontraktion bei 10^{-5} mol/l, intravasal, aller Verumgruppen, (Tab. 7) und die maximale Adrenalin-Kontraktion bei 10^{-5} mol/l, extravasal, der Verumgruppen mit 0,005 % und 0,1 mg Aescin/100 g KG intraperitoneal 18 Std. vor der Präparation (Tab. 8).

	Kontrolle	0.005 %	0.0025 %	0.1 mg/100 g
	Aescin	Aescin	Aescin	Aescin
	n = 9	n = 11	n = 10	n = 11
$\bar{x}_S \text{Adr. } 10^{-6}$	1.8856	2.1891	3.0400	2.6082
vor Schädigung	± 0.42	± 0.56	± 0.60	± 0.70
$\bar{x}_S \text{Adr. } 10^{-6}$	0.0900	0.3127	0.2890	1.2036
nach Schädigung	$\pm 0.04^{**}$	$\pm 0.11^{**}$	$\pm 0.06^{**}$	$\pm 0.70^*$
$\bar{x}_S \text{Adr. } 10^{-5}$	5.5544	7.3345	7.1690	6.8018
vor Schädigung	± 1.00	± 1.15	± 1.30	± 1.30
$\bar{x}_S \text{Adr. } 10^{-5}$	2.2996	5.3882	4.3160	4.4826
nach Schädigung	$\pm 0.63^{**}$	$\pm 1.06^*$	$\pm 0.96^{**}$	$\pm 1.18^*$
$\bar{x} \text{ max Adr. } 10^{-6}$	4.8389	6.1245	9.1210	9.6682
vor Schädigung	± 0.97	± 1.47	± 1.74	± 2.72
$\bar{x} \text{ max Adr. } 10^{-6}$	0.1811	1.1791	0.9520	2.5664
nach Schädigung	$\pm 0.10^{**}$	$\pm 0.66^{**}$	$\pm 0.21^{**}$	$\pm 1.01^*$
$\bar{x} \text{ max Adr. } 10^{-5}$	13.1733	18.5905	19.4790	20.7545
vor Schädigung	± 2.37	± 3.26	± 3.53	± 3.67
$\bar{x} \text{ max Adr. } 10^{-5}$	5.1778	12.3145	10.2450	14.5091
nach Schädigung	$\pm 1.40^{**}$	± 2.87	± 1.83	± 4.66

Tab.7: Aescineinfluß auf die Schädigung des Karotisendothels des Meerschweinchens, gemessen an der Kontraktionsabnahme auf intravasal appliziertes Adrenalin in mol/l bei verschiedenen Aescinbehandlungen (0.005%, 0.0025%, 20 min. intravasal und 0.1 mg Aescin/100 g KG intraperitoneal 18 Std. vor der Präparation). Als schädigende Substanz wurde Polidocanol (0.025%) 13 min. intravasal appliziert.

$\bar{x}_S$: Mittelwerte der Anstiegssteilheit ($\Delta p/\Delta t$) der Adrenalin-kontraktion in den ersten 15 Sekunden der Reaktion angegeben in mmHg/15s

$\bar{x} \text{ max}$: Mittelwerte der maximalen Kontraktion nach intravasaler Adrenalingabe, angegeben in mmHg.

	Kontrolle	0.005 % Aescin	0.025 % Aescin	0.1 mg/100 g Aescin
	n = 9	n = 11	n = 10	n = 11
$\bar{x}_S \text{Adr. } 10^{-6}$ vor Schädigung	0.8411 ± 0.34	0.6073 ± 0.12	1.3190 ± 0.40	0.8336 ± 0.22
$\bar{x}_S \text{Adr. } 10^{-6}$ nach Schädigung	0.0378 $\pm 0.03^{***}$	0.2327 $\pm 0.19^*$	0.0630 $\pm 0.06^{**}$	0.2455 $\pm 0.17^{**}$
$\bar{x}_S \text{Adr. } 10^{-5}$ vor Schädigung	5.3022 ± 1.03	6.9709 ± 0.15	9.5500 ± 2.28	6.5564 ± 0.97
$\bar{x}_S \text{Adr. } 10^{-5}$ nach Schädigung	1.9925 $\pm 0.56^{***}$	3.3445 $\pm 0.88^{***}$	3.5360 $\pm 0.67^{**}$	4.0873 $\pm 1.14^{**}$
$\bar{x} \text{ max Adr. } 10^{-6}$ vor Schädigung	1.9122 ± 0.80	2.3673 ± 0.77	3.0950 ± 0.80	2.3682 ± 0.71
$\bar{x} \text{ max Adr. } 10^{-6}$ nach Schädigung	0.0756 $\pm 0.07^{***}$	0.4155 $\pm 0.28^*$	0.1310 $\pm 0.13^{***}$	0.6727 $\pm 0.45^{**}$
$\bar{x} \text{ max Adr. } 10^{-5}$ vor Schädigung	16.6156 ± 2.67	26.0945 ± 5.28	26.5540 ± 5.14	24.9918 ± 3.49
$\bar{x} \text{ max Adr. } 10^{-5}$ nach Schädigung	6.1022 $\pm 2.50^{***}$	15.5309 $\pm 4.17^*$	16.6710 ± 4.11	21.200 ± 6.05

Tab.8: Aescineinfluß auf die Schädigung des Karotisendothels des Meerschweinchens, gemessen an der Kontraktionsabnahme auf extravasal appliziertes Adrenalin in mol/l bei verschiedenen Aescinbehandlungen (0.005%, 0.0025%, 20 min. intravasal und 0.1 mg Aescin/100 g KG intraperitoneal 18 Std. vor der Präparation). Als schädigende Substanz wurde Polidicanol (0.025%) 13 min. intravasal appliziert.

$\bar{x}_S$: Mittelwerte der Anstiegssteilheit der Adrenalin-kontraktion in den ersten 15 Sekunden der Reaktion, angegeben in mmHg/15s

$\bar{x} \text{ max}$: Mittelwerte der maximalen Kontraktion nach extravasaler Adrenalingabe, angegeben in mmHg.

Setzte man die Adrenalinwirkung vor der Schädigung gleich 100 %, war ein deutlicher Unterschied zwischen den Kontrollkarotiden und den mit Aescin vorbehandelten Karotiden zu erkennen (Abb. 14 bis 17). Die Anstiegssteilheit lag um 1,3 bis 4,3 mal höher, die max. Kontraktion bis 2,9 mal höher als bei den Kontrollen. Jedoch war der Unterschied nirgends signifikant.

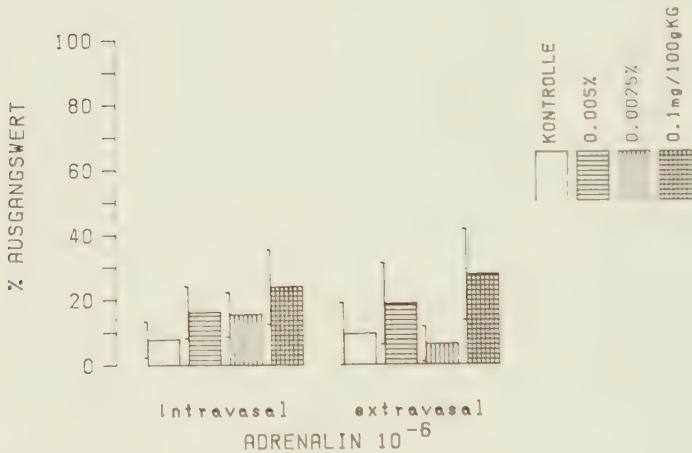


Abb. 14: maximale Adrenalincontraktion 10^{-6} mol/l nach der Schädigung.

Schädigung der Meerschweinchenkarotiden mit 0.025 % Polidocanol (13 min intravasal). Maximale Adrenalin-contraktion vor der Schädigung = 100%.

Kontrolle und Aescinbehandlung mit 0.005%, 0.0025% Aescin 20 min. intravasal und 0.1 mg Aescin/100 g KG intra-peritoneal 18 Stunden vor der Präparation.

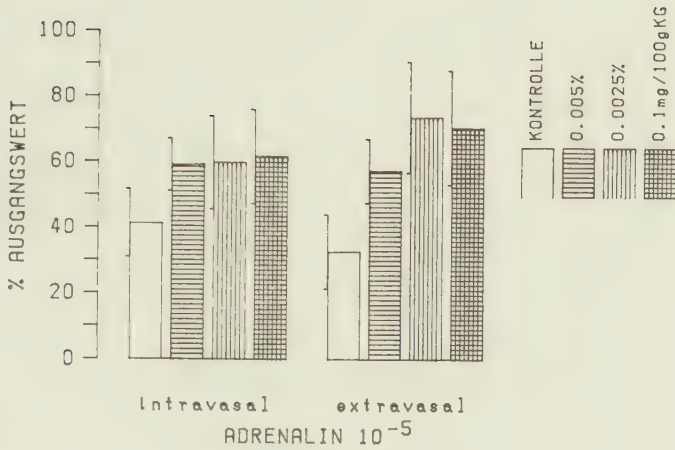


Abb. 15: Maximale Adrenalincontraktion 10^{-5} mol/l nach der Schädigung.

Schädigung der Meerschweinchenkarotiden mit 0.025% Polidocanol (13 min intravasal). Maximale Adrenalin-
kontraktion vor der Schädigung = 100%.

Kontrolle und Aescinbehandlung mit 0.005%, 0.0025% Aescin
20 min intravasal und 0.1 mg Aescin/100 g KG intra-
peritoneal 18 Stunden vor der Präparation.

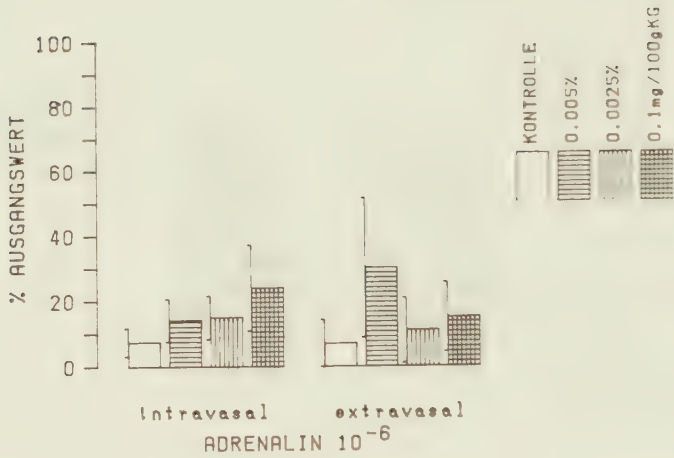


Abb. 16: Anstiegssteilheit ($\Delta p/\Delta t$) der Adrenalin-kontraktion 10^{-6} mol/l nach der Schädigung. Schädigung der Meerschweinchenkarotiden mit 0.025% Polidocanol (13 min intravasal). Maximale Adrenalin-kontraktion vor der Schädigung = 100%. Kontrolle und Aescinbehandlung mit 0.005%, 0.0025% Aescin 20 min intravasal und 0.1 mg Aescin/100 g KG intraperitoneal 18 Stunden vor der Präparation.

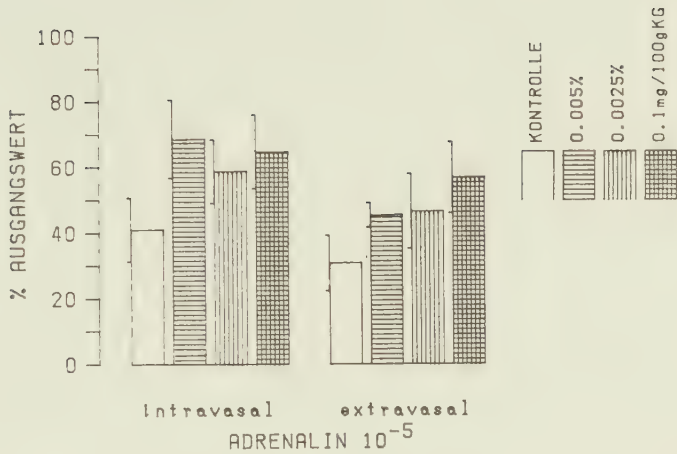


Abb. 17: Anstiegssteilheit ($\Delta p/\Delta t$) der Adrenalin-
kontraktion 10^{-5} mol/l nach der Schädigung.
Schädigung der Meerschweinchenkarotiden mit 0.025%
Polidocanol (13 min intravasal). Maximale Adrenalin-
kontraktion vor der Schädigung = 100%.
Kontrolle und Aescinbehandlung mit 0.005%, 0.0025% Aescin
20 min intravasal und 0.1 mg Aescin/100 g KG
intraperitoneal 18 Stunden vor der Präparation.

Um festzustellen, ob Aescin die Regeneration des geschädigten Endothels fördert, wurde die intra- und extravasale Applikation von Adrenalin (5×10^{-6} mol/l) nach der Schädigung bei Kontrollkarotiden und bei mit Aescin perfundierten Karotiden dreimal in einem Zeitabschnitt von 30 min. wiederholt (Abb.18).

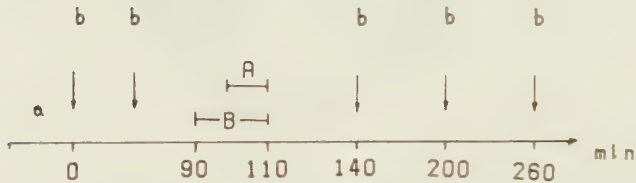


Abb. 18: Zeitlicher Versuchsablauf

a: Anpassungszeit, 45 min.

b: Adrenalinapplikation nacheinander jeweils intra- und extravasal (5×10^{-6} mol/l)

A: Polidocanol 0.025% 13 min intravasal

B: Aescin 0.005% 20 min intravasal

Die Tabelle 9 zeigt, daß die erste Adrenalinapplikation 30 min. nach der Endothelschädigung bei den mit Aescin perfundierten Karotiden im Durchschnitt eine um 80 % höhere Reaktion auslöste als bei den Kontrollkarotiden, denen kein Aescin gegeben wurde.

Bei der 2. und 3. Aescinapplikation reagierten Kontrollgruppe und Verumgruppe auf intravasal appliziertes Adrenalin nach der Schädigung höher als vor der Schädigung. Dabei lag bei der 2. Adrenalingabe die Verumgruppe um 24 % höher als die Kontrollgruppe, bei der 3. Adrenalingabe jedoch nur noch um 13 %.

Bei der 2. und 3. extravasalen Adrenalingabe lag zwischen Kontrollgruppe und Verumgruppe sowohl bei der Anstiegssteilheit als auch bei der maximalen Reaktion kein Unterschied.

Tab. 9: Regeneration des Karotisendothel (Meerschweinchen) nach intravasaler Schädigung mit Polidocanol (0.025% 13 min.) gemessen an der Adrenalinkontraktion (5×10^{-6} mol/l) jeweils 140, 200 und 260 min nach Versuchsbeginn. Die Adrenalinkontraktion vor der Schädigung = 100 %.

Kontrolle: n=7				Aescin 0,005% : n=8		
min	140	200	260	140	200	260
$\bar{x}_S$	61.70	149	178	101	194	212
i.vas.	± 11.85	± 21.68	± 30.01	± 16.07	± 24.47	± 35.74
$\bar{x}_{max}$	32	170	217	78	191	251
i.vas.	± 3.00	± 21.18	± 38.03	± 13.39	± 30.08	± 41.57
$\bar{x}_S$	37	65	77	60	70	71
i.B.	± 11.01	± 10.6	± 11.47	± 11.94	± 11.94	± 19.86
$\bar{x}_{max}$	37	138	137	55	124	135
i.B.	± 10.99	± 30.6	± 18.3	± 21.49	± 30.86	± 42.25

$\bar{x}_S$ = Mittelwerte der Anstiegssteilheit in den ersten 15 Sekunden der Adrenalinkontraktion angegeben in Δ % zum Wert vor der Schädigung. $\bar{x}_{max}$ = Mittelwerte der maximalen Reaktion angegeben in Δ % zum Wert vor der Schädigung.

i.vas. = intravasal, i.B. = extravasal.

3. Die Wirkung von Aescin am isolierten Gefäß- endothel der Meerschweinchenkarotiden

Um einen Hinweis über den Angriffsort des Aescin zu finden, wurden Untersuchungen an den Karotiden mit intaktem Endothel durchgeführt. Löst Aescin seine vasoaktiven Effekte am Endothel aus, wofür es die Blutbahn nicht verlassen müßte oder liegt der Angriffsort in der Media oder in der Adventitia.

Zu diesem Zweck wurde Aescin den isolierten Karotiden sowohl intravasal als auch extravasal appliziert.

3.1 Intravasale Applikation

3.1.1 Am unvorbehandelten Präparat

Die isolierten Gefäße benötigten eine gewisse Eingewöhnungszeit, deshalb fand die erste Aescinapplikation frühestens 45 Minuten nach deren Einbringen in das Gefäßbad statt. Perfundierte man Aescin in einer Konzentration von 0,0025% und 0,005% (in Krebs-Henseleit-Lösung gelöst) 15 Minuten lang intravasal (i.vas.), setzte nach ca. 5 Minuten bei allen Versuchen eine Spannungszunahme der Karotiden ein, die im Mittel bei der 0,0025%igen Aescinlösung 21 mmHg und bei der 0,005%igen Aescinlösung 41.17 mmHg betrug. Diese dosisabhängige Spannungszunahme war signifikant. Die Gefäßtonisierung blieb mindestens eine Stunde erhalten und ließ dann sehr langsam nach, wobei das Ausgangsniveau nicht mehr erreicht wurde (Tab.10).

Tab.10: Spannungszunahme der isolierten Meerschweinchenkarotiden bei 15minütiger, intravasaler (i.vas.) Aescinwirkung (0.0025 % und 0.005 %).

	n	$\bar{x}$	SE
Aescin 0.0025 % i.vas.	17	21	2.41
Aescin 0.005 % i.vas.	6	41.17	10.23

**

Die Mittelwerte der Spannungszunahme ($\bar{x}$) sind in mmHg angegeben. SE = Standarderror.

3.1.2 Vorbehandlung mit Adrenalin

Dilatationen konnten bei den isolierten Gefäßen nur erreicht werden, wenn sie einen gewissen Tonus besaßen. Deshalb wurden die Karotiden mit Adrenalin tonisiert, welches extravasal (10^{-5} mol/l) appliziert wurde. Das Adrenalin blieb während der intravasalen Aescinperfusion im Organbad. Dabei ergab sich nach intravasaler Aescinperfusion stets eine sofort einsetzende Dilatation mit anschließend bekannter Tonisierung. Die Tonisierung setzte bei Adrenalin-unvorbehandelten und - vorbehandelten Karotiden zum gleichen Zeitpunkt ein, die Dilatationsphase entsprach also zeitlich dem am Anfang gleichbleibenden Spannungszustand bei den Präparaten, die nicht mit Adrenalin vortonisiert wurden (Tab. 11).

Tab. 11: Reaktionen der mit Adrenalin (10^{-5} mol/l)
vorbehandelten Meerschweinchenkarotiden bei
15minütiger intravasaler (i.vas.) Perfusion mit
Aescin (0.0025 % und 0.005 %).

	n	$\bar{x}$ Spannungs- abnahme	SE	$\bar{x}$ Spannungs- zunahme	SE
Aescin 0,0025 % i.vas.	8	6,13	1,27	21,38	6,53
Aescin 0,005 % i.vas.	8	8,38	2,19	27,63	6,7

Die Mittelwerte der Spannungsänderungen ($\bar{x}$) sind in
mmHg angegeben. SE = Standarderror.

3.2 Extravasale Applikation

3.2.1 Am unvorbehandelten Präparat

Gab man Aescin (0,0025 %) 15 Minuten extravasal ins Gefäßbad (i.B.), erhielt man eine Spannungszunahme der Gefäße um durchschnittlich 12,93 mmHg (SE = 2,9).

Aescin ins Gefäßbad gegeben wirkte also schwächer als intravasal appliziertes Aescin. Außerdem wurde das Ausgangsniveau bei extravasal appliziertem Aescin nach ca. 1 Std. wieder erreicht (Tab. 12).

Tab. 12: Vergleich der Spannungszunahme von isolierten Meerschweinchenkarotiden nach intravasaler (i.vas.) und extravasaler (i.B.) Aescineinwirkung (0.0025 % 15 Minuten).

	n	$\bar{x}$	SE
Aescin 0,0025 % i.B.	7	12,93	2,9
Aescin 0,0025 % i.vas.	17	21	2,4

]

*

Die Mittelwerte der Spannungszunahmen sind in mmHg angegeben. SE = Standarderror.

3.2.2 Vorbehandlung mit Adrenalin

Um festzustellen, ob bei der extravasalen Aescinapplikation zunächst ebenfalls eine Gefäßdilatation auftritt, wurden die Karotiden mit Adrenalin (10^{-5} mol/l) tonisiert. Das Adrenalin wurde 2 bis 3 Minuten vor Aescingabe gegeben und wurde solange perfundiert, bis das Aescin aus dem Gefäßbad wieder ausgespült wurde. Wie aus der Abbildung 19 ersichtlich ist.

konnte mit einer extravasalen Aescinapplikation keine Dilatation ausgelöst werden. Es traten stets nur Spannungszunahmen auf, die jedoch bei gleicher Konzentration niedriger lagen als diejenigen bei intravasaler Aescinanwendung (Tab. 13).

Tab.13: Wirkungsvergleich von intravasal (i.vas.) und extravasal(i.B.) appliziertem Aescin (0.0025 %, 15 Minuten) an mit Adrenalin vorbehandelten Meer-schweinchenkarotiden.

	n	Spannungs- abnahme x	SE	Spannungs- zunahme x	SE
Aescin 0,0025 % i.B.	6	0	0	9,67	1,98
Aescin 0,0025 % i.vas.	6	6,13	1,27	21,38	6,53

Die Mittelwerte ($\bar{x}$) der Spannungsänderungen sind in mmHg angegeben. SE = Standarderror.

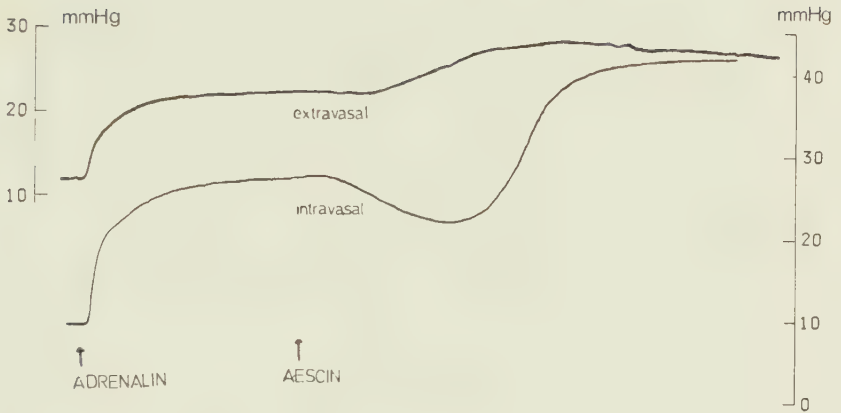


Abb. -19: Wirkungsvergleich von intravasal und extravasal applizierten Aescin (0.0025 %, 15 min) an den mit Adrenalin vorbehandelten Meerschweinchenkarotiden.

Aus der Abbildung geht hervor, daß eine Gefäßdilatation nur nach intravasaler Aescinapplikation erhalten werden konnte.

3.3 Aescin und Acetylcholin

Acetylcholin dilatierte bei intravasaler Applikation (10^{-6} mol/l) die Karotiden durch Angriff an Endothelrezeptoren. Extravasal appliziertes Acetylcholin wirkte dagegen nicht dilatierend. Um die Dilatation zu erkennen, mußten die Karotiden ebenfalls vorher durch Adrenalin (extravasal) tonisiert werden. Anschließend wurde den Karotiden z.T. intravasal und z.T. extravasal Aescin (0,0025 %, 15 min) gegeben. Nach der Aescingabe wurde wiederum Acetylcholin intravasal appliziert. Hier war keine vorherige Tonisierung notwendig, denn es trat nach Aescin die bekannte Gefäßtonisierung auf. Nach intravasaler Aescinanwendung war der dilatierende Effekt des Acetylcholins gehemmt. Dagegen beeinflusste das extravasal gegebene Aescin die Acetylcholinwirkung in keiner Weise. Wie aus Tabelle 14 ersichtlich ist, war die Acetylcholinwirkung vor und nach extravasaler Aescineinwirkung nahezu gleich, während die Acetylcholinwirkung nach intravasaler Aescineinwirkung von 29,53 % auf 0,9 % gehemmt war. (Abb.20)

Tab. 14: Acetylcholinwirkugn (ACh) an isolierten Meerschweinchenkarotiden vor und nach intravasaler und extravasaler Aescineinwirkung.

	n	ACh vor Aescin %	SE	ACh nach Aescin %	SE
Aescineinwirkung intravasal	11	29,53	4,45	0,9	0,49

Aescineinwirkung extravasal	11	25,83	6,81	27,23	7,14

Die Mittelwerte ($\bar{x}$) der ACh Dilatation sind in Δ % angegeben, bezogen auf die vorhergehende Tonisierung.
SE = Standarderror.

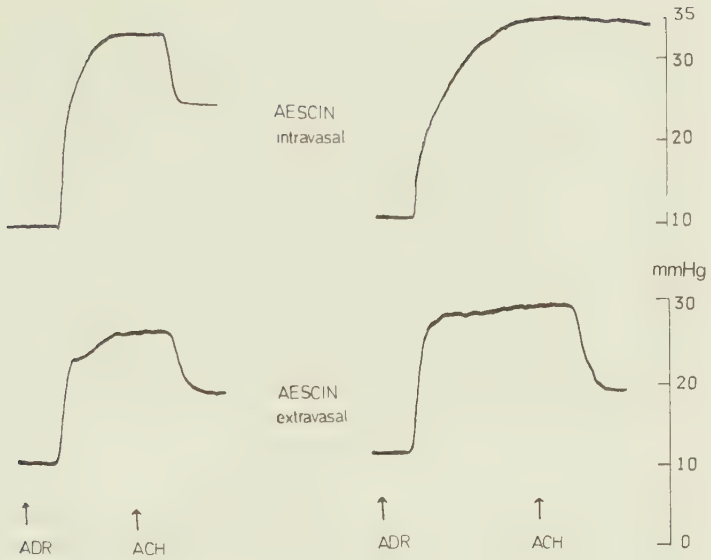


Abb. 20: Acetylcholinwirkung (ACh) an isolierten Meerschweinchenkarotiden vor und nach intravasaler und extravasaler Aescineinwirkung, nach intravasaler Aescineinwirkung war keine ACh-Dilatation mehr vorhanden.

3.4 Zweimalige Aescinapplikation

Nach wiederholter intravasaler Aescinperfusion (0,0025 %, 15 Minuten) war bei den Meerschweinchenkarotiden keine Dilatation mehr auslösbar. Auch war die folgende Gefäßtonisierung nur schwach ausgebildet, teilweise auch überhaupt nicht mehr vorhanden. War die erste Aescingabe jedoch ins Organbad, also extravasal, gegeben worden, dann war die Gefäßreaktion auf eine zweite, intravasale Aescingabe typisch mit Dilatations- und Tonisierungsphase vorhanden. Auf eine dritte, intravasale Aescingabe konnte aber wiederum keine Gefäßdilatation mehr erreicht werden. (Tab. 15)

Tab. 15: Wiederholte 15minütige Einwirkung von Aescin (0.0025 %) intravasal (i.vas.) und extravasal (i.B.) auf isolierte Meerschweinchenkarotiden.

	n	Dilatation $\bar{x}$	SE	Tonisierung $\bar{x}$	SE
1. Aescingabe 0,0025% i.vas.	6	8,15	1,7	16,17	4,45
2. Aescingabe 0,0025 % i.vas.		0***	0	4,33	1,96
1. Aescingabe 0,0025% i.B.	2	-	-	15,5	5,5
2. Aescingabe 0,0025% i.vas.		8,0	3,0	18,0	3,0
3. Aescingabe 0,0025% i.vas.		0***	0	20,0	2,0

Die Mittelwerte der Spannungsänderungen sind in mmHg angegeben. SE = Standarderror.

3.5 Aescinwirkung nach geschädigtem Gefäßendothel

Um zu untersuchen, inwieweit die gefäßaktiven Effekte des Aescins vom Endothel abhängig sind, wurde das Gefäßendothel der Karotiden mit verschiedenen Noxen geschädigt. Als schädigende Substanzen wurden Polidocanol (0,025 %, 13 min), Etacrynsäure (0,1 %, 10 min) und Aqua bidest (4 min) durch die Karotiden perfundiert. Der Endothel- und der Muskelzustand der Karotiden wurde vor und nach der Schädigung miteinander verglichen. Dabei diente Acetylcholin (10^{-6} mol/l) als Indikator für die Endothelbeschaffenheit, das Ausmaß der geschädigten Muskulatur wurde am Nachlassen der Kontraktilität der Karotiden auf Adrenalin (10^{-5} mol/l) geprüft. Anschließend wurden die Karotiden mit Aescin (0,005 %, 15 min) perfundiert. Wie aus Tabelle 16 ersichtlich ist, nahm die Aescindilatation mit zunehmender Endothelschädigung ab. Mit zunehmender Schädigung der Muskelzellen nahm die Aescintonisierung ab.

Tab. 16: Reaktion der isolierten Meerschweinchenkarotiden auf intravasal perfundiertes Aescin nach geschädigtem Gefäßendothel.

$\bar{x}$ Adr. (SE)	$\bar{x}$ Ach (SE)	Schädigung	$\bar{x}$ Adr. (SE)	$\bar{x}$ Ach (SE)	$\bar{x}$ Aescin - Dil. Tonis. (SE) (SE)
21,17 (3,75)	17,88 (1,96)	Aqua bidest (4 min)	20,29 (1,6)	0 *** (0)	0 *** 21,17 (0) (4,17)
25,57 (3,79)	35,90 (8,30)	Etacryns. (0,1%,10 min)	20,29 (5,31)	2,40 ** (1,90)	12,50 14,00 * (4,50)(2,34)
29,00 (6,14)	23,21 (2,70)	Polidocanol (0,025%,13min)	17,80 (6,33)	0 *** (0)	0,60 12,20 * (0,40)(1,56)

Die Mittelwerte der Adrenalincontraktionen ($\bar{x}$ Adr.) vor und nach der Schädigung sind in mmHg angegeben, die Mittelwerte der Acetylcholidilatation ($\bar{x}$ Ach) sind in Δ % in Bezug auf die vorangegangene Adrenalin-tonisierung angegeben. Die Mittelwerte der Spannungsänderungen durch Aescin ($\bar{x}$) sind in mmHg angegeben. SE = Standarderror.

n = 6

3.6 Beeinflussung der Aescintonisierung

Es wurde versucht die Tonisierung durch Aescin mit verschiedenen Substanzen zu beeinflussen. Wie aus Tabelle 17 ersichtlich ist, hatte der α -Blocker Phenylamin (Regitin) keinen Einfluß auf die bestehende Tonisierung. Im Gegensatz dazu konnte Nitroprussidnatrium (Nipruss) (10^{-5} mol/l) die Tonisierung um 48 % und der Kalzium-Antagonist Verapamil (Isoptin) (10^{-5} mol/l) um 70 % abschwächen.

Tab.17: Einfluß von Nipruss, Isoptin und Regitin auf die Aescintonisierung bei isolierten Meerschweinchenkarotiden.

	n	$\bar{x}$	SE
Nipruss	6	48	8,04
Isoptin	6	70	5,61
Regitin	6	0	0

Die Mittelwerte ($\bar{x}$) der Spannungsabnahme sind in Δ % in Bezug auf die Aescintonisierung angegeben.

SE = Standarderror.

3.7 Beeinflussung der Aescindilatation

Da Aescin die Acetylcholinwirkung an den Karotiden verhin-
derte, sollte untersucht werden, ob die Dilatationswirkung
des Aescins und des Acetylcholins vom selben Endothelrezeptor
abhängig ist. Atropin als Antagonist des Acetylcholins
besetzt reversibel den ACh-Rezeptor ohne eine Reaktion aus-
zulösen (Kuschinsky 1982). Atropin (10^{-6} mol/l) wurde nun
jeweils zu der Acetylcholin- (10^{-6} mol/l) und zu der
Aescinfraktion (0.0025 %) dazugegeben und den Karotiden
intravasal appliziert. Wie aus der Tabelle 18 ersichtlich
ist, fand nach Atropingabe keine Acetylcholindilatation
mehr statt. Dagegen konnte die Aescindilatation nicht
von Atropin beeinflusst werden.

Tab. 18: Einfluß von Atropin (10^{-6} molar) auf die Acetylcholin (ACh)- und Aescindilatation der isolierten Meerschweinchenkarotiden.

	n	$\bar{x}$ $\Delta\%$	SE	$\bar{x}$ mmHg	SE
ACh (i.vas.)	6	25,38	3,8		
ACh + Atropin		0 ***	0		
Aescin 0,0025% 6 (i.vas.)				6,13	1,27
Aescin + Atropin (i.vas.)				6,00	1,05

Die Mittelwerte der ACh-Dilatation sind angegeben in $\Delta\%$, bezogen auf eine vorangegangene Adrenalinkontraktion. Die Mittelwerte der Aescindilatation sind in mmHg Spannungsabnahme angegeben. SE = Standarderror.

V. DISKUSSION

1. Methodik

1.1 Perfusionsversuch am Hinterlauf der narkotisierten Katze.

Es muß darauf hingewiesen werden, daß die morphologischen Veränderungen, die bei einer chronischen Veneninsuffizienz zum Ödem führen, innerhalb von Monaten bis Jahren entstehen und nicht wie in unseren Versuchen innerhalb weniger Minuten.

Die gastrale Gabe von Chloralose bietet als Vorteile eine gleichmäßige Konzentration des Narkotikums im Blut und eine lange Wirkungsdauer ohne Nachdosierung. Ein Nachteil dieser Applikationsform ist der langsame Wirkungseintritt der Narkose von ca. 1 Stunde. Nach den bisherigen Versuchen hat Chloralose keinen Einfluß auf die Reaktivität der peripheren Gefäße. Untersuchungen über die Wirkung der Chloralose auf den Kreislauf wurden vorwiegend an Hunden durchgeführt. Dabei wurde Chloralose intravenös appliziert. Die Wirkungen auf den Kreislauf waren im Vergleich zu anderen Narkotika gering (Brendel et al 1954). Bei sehr hohen Chloralosedosen (80 - 100 mg/kg i.v.) kann eine Kreislaufdepression auftreten, welche sich in einem Blutdruckabfall äußert (Schneider 1984). Unsere Chloralosedosen lagen jedoch weit niedriger bei 60 mg/kg per os.

Die arterio-venöse Perfusion der Extremität erforderte eine vollständige Unterbindung des Kollateralkreislaufes, welche mit dem Abschnüren des Beines mittels Kabelbindern erreicht wurde. Frühere Untersuchungen

(Remien et al. 1970) zeigten, daß mit dieser Methode der Kollateralkreislauf dicht abgeschlossen ist. Die Möglichkeit, daß durch dieses Abschnüren ein Lymphstau entsteht und somit ein Ödem begünstigt wird, wurde ebenfalls untersucht. Felix (1978) prüfte, ob Evansblue, Perfusionstechnik und die Perfusion wässriger Lösungen die Kapillarpermeabilität verändern können. Die Versuche wurden in gleicher Weise durchgeführt wie in der Methodik beschrieben, nur mit dem Unterschied, daß während der Schädigungsphase statt Polidocanol isotone Kochsalzlösung verwendet wurde. Weder Eiweiß- noch Flüssigkeitsgehalt im Interstitium des perfundierten Beines unterschieden sich von denen des Kontrollbeines.

Zusätzlich ist darauf hinzuweisen, daß der freie, nicht an Plasmaproteine gebundene Anteil des Evansblue (1-3%) nicht berücksichtigt wurde. Es war aber davon auszugehen, daß nicht-gebundenes Evansblue die Blutbahn verließ und an Gewebeproteine gebunden wurde. Da Ödem- und Kontrollbein in gleicher Weise betroffen waren, war der entstehende Fehler als gering zu bewerten.

1.2 Perfusionsversuch an isolierten Meerschweinchenkarotiden.

Die in-vitro Versuche an isolierten, nichtdurchbluteten Karotiden eignen sich zwar gut für die Darstellung spezifischer Wirkungsmechanismen jedoch ist bei der Übertragung der Ergebnisse auf in-vivo Verhältnisse Vorsicht geboten. Das Karotisendothel ist unter Umständen einer konzentrierteren Aescinlösung und einem längeren Kontakt ausgesetzt, als bei in-vivo Bindungen. Außerdem wird mit reinem Aescin perfundiert

und es ist noch nicht bewiesen, ob Aescin nicht über Metabolite wirksam ist.

Es wurden Karotiden verwendet, weil bei Ihnen Intima, Media und Adventitia gut ausgebildet sind und Spannungsänderungen über den Perfusionsdruck gut zu erkennen sind. Weitere Vorteile der Karotiden sind, daß sie gut zu präparieren und auf eine relativ lange Strecke astfrei sind und daß sie unbeschädigt entnommen werden können. Außerdem wurde in der Literatur eine endothelabhängige Acetylcholinwirkung nur an Arterien beschrieben (Furchgott und Zawadzki 1980) und wir benötigten diese ACh-Wirkung, um den Endothelzustand darzustellen.

Der Versuch war so angelegt, daß Tonusänderungen der Gefäße anhand der Änderungen des Perfusionsdruckes abgelesen werden konnten. Denn nach dem Hagen-Poiseuilleschen Gesetz gilt (Kuchling 1977):

$$\frac{V}{t} = \frac{\Delta p \cdot r^4}{l \cdot 8 \cdot \eta}$$

wobei, auf die vorliegende Versuchsanordnung angewandt, die Formelzeichen folgendes bedeuten:

Δp = Druckunterschied zwischen Gefäßanfang und -ende

r = Gefäßradius, l = Gefäßlänge, η = dynamische

Viskosität, $\frac{V}{t}$ = Durchflußmenge pro Zeit (ml/min)

Durch Umstellung der Gleichung nach Δp erhält man:

$$\Delta p = \frac{\frac{V}{t} \cdot 8 \cdot \eta \cdot l}{r^4}$$

Da die Größen $\frac{V}{t}$, η , l in der vorliegenden Versuchsanordnung konstant sind ($= k$), ergibt sich:

$$\Delta p = \frac{1}{r^4} \cdot k$$

Der Druckabfall Δp am Gefäß ist also umgekehrt proportional zur vierten Potenz des Gefäßradius. Der vom Manometer erfaßte Perfusionsdruck ($p_{\text{perf.}}$) setzt sich additiv aus dem Druckabfall am Gefäß (Δp) und aus dem Druckabfall an Zu- und Ableitung ($\Delta p_{\text{Leitung}}$) zusammen.

$$p_{\text{perf.}} = \Delta p + \Delta p_{\text{Leitung}}$$

Da $\Delta p_{\text{Leitung}}$ konstant und zudem sehr gering (1 - 3 mmHg) ist, können Veränderungen des Perfusionsdruckes allein auf die Radiusveränderungen des Gefäßes zurückgeführt werden; und zwar je kleiner der Gefäßradius, desto größer wird der Perfusionsdruck.

2. Ödemprotektive Aescinwirkung nach oraler Applikation

Der starke Speichelfluß und die Abwehrbewegungen der Katzen, welche bei den oralen Dosen von 1 mg Aescin/kg/KG auftraten, lassen sich anhand des Geschmackes von Aescin erklären. Dieser ist zuerst süßlich, kurz darauf jedoch bitter, seifig und leicht adstringierend (Hindemith 1943). Inwieweit bei den von uns angewandten niedrigen Dosen eine schleimhautreizende Wirkung auf den Magen-Darm-Bereich auftritt, wurde nicht untersucht. Von Uebel und Patt (1960) wurden jedoch bei Ratten Darmschleimhautentzündung erst ab Dosen von 35 mg Aescin/kg/KG p.o. gefunden.

Wie Tab. 1 zeigt, war das Eiweißödem in der Haut stärker gehemmt als in der Muskulatur.

Diese Wirkung hatte auch Felix (1978) bei einem anderen ödemprotektiven Pharmakon, dem O- β Hydroxyethylrutosid erkannt.

Als Ursache bieten sich verschiedene Möglichkeiten an.

1. Aescin verteilt sich ungleich und gelangt in die Endstrombahn der Haut in einer höheren Konzentration als in die der Muskulatur.

Über eine ungleiche Verteilung ist jedoch nichts bekannt. Eine stärkere Anflutung in der Haut ist bei einer gut wasserlöslichen Substanz auch kaum anzunehmen (Felix 1978).

2. Der gefäßtonisierende Effekt des Aescins und die Abkühlung der geschorenen Extremität bewirken eine Umverteilung des Blutes zu Gunsten der Muskulatur. Da eine gefäßtonisierende Aescinwirkung schon mehrmals nachgewiesen wurde (Annoni et al. 1979, Longiave et al. 1978, Berti et al. 1977), könnte diese Behauptung zutreffen. Die Abkühlung der Extremität dürfte weniger Einfluß nehmen, da eine Wärmelampe über der Katze die Umgebungstemperatur auf ca. 32° C hielt. Jedoch darf dieser Faktor auch nicht vernachlässigt werden.

3. In der Haut tritt ein schwächerer ödematöser Effekt des Polidocanols auf, welcher leichter zu hemmen ist als das stärkere Ödem in der Muskulatur. Hammersen et al. (1983,a) erkannten an elektronenmikroskopischen Untersuchungen, daß durch Polidocanol thrombische Verschlüsse von arteriellen und venösen Gefäßen auftreten können. Man könnte demzufolge annehmen, daß das Polidocanol in einem geringeren Maße in die Hautgefäße gelangt und somit dort eine schwächere ödematöse Wirkung hat.

Aus Tab. 1 ist weiter ersichtlich, daß eine signifikante ödemprotektive Aescinwirkung nur mit der höchsten der drei Dosisgruppen, also mit 1 mg Aescin/kg KG, erzielt werden konnte. Die Dosis 0,1 mg Aescin/ kg KG hatte einen etwas abschwächenden Effekt auf das Ödem. Die Dosis 0,01 mg Aescin/kg KG war dagegen zu niedrig, um einen Wirkungsspiegel zu erreichen. Die Vermutung, daß Aescin in minimalen Dosen besser wirken könnte, hat sich somit nicht bestätigt. Jedoch liegt der nachgewiesene ödemprotektiv wirksame Dosisbereich von 1 mg Aescin/kg KG weit unter den bisher in der Literatur beschriebenen oral applizierten Aescindosen.

Weiterhin ließ sich ein Unterschied zwischen dem Gehalt von Ödemprotein und Ödemwasser erkennen (Tab. 1 u.2). Aescin hemmte zwar die Entstehung des Eiweißödems, nicht aber die des Wasserödems. In der Literatur ist dieses Ergebnis auch bei anderen ödemprotektiven Pharmaka (Rutoside) zu finden (Felix 1978).

Die Entstehung von Eiweiß- und Wasserödem gehen nicht parallel. Während der Schädigungsphase wird nur mit isotonen wässrigen Lösungen perfundiert, es entsteht also zuerst ein Wasserödem. Eiweiß kann erst in den letzten 45 Minuten des Versuches ins Gewebe übertreten, wenn wieder mit Blut perfundiert wird. Nach Hammersen et al. (1983,b) schädigt Polidocanol das Gefäßendothel in der Weise, daß das Endothel stark abgeflacht wird, sich halskrausenartig wellt, tiefe Invaginationen der luminalen Zellmembran und viele Endothelblasen auftreten. Es ist anzunehmen, daß die Kapillaren zunächst verstärkt für niedermolekulare Flüssigkeiten und dann erst für Eiweiß durchlässig werden. Aescin verminderte also nur den Übertritt von

hochmolekularen Substanzen und hatte keinen Einfluß auf die Nettofiltration des Wassers.

Zu diesen Befunden paßt auch der hypothetische Wirkungsmechanismus von Aescin wie ihn Enghofer et al. (1983) (siehe Literaturteil) annehmen.

Dabei soll Aescin über eine Hemmung der proteoglykanabbauenden Enzyme eine festere Vermaschung der Endothelzellen bewirken, so daß großmolekulare Substanzen nicht mehr durch die Kapillarwand treten können.

Die ins Bein filtrierte Polidocanol- und Kochsalzlösungen ließen eine dosisabhängige Reihenfolge erkennen ($1\text{mg} < 0,1\text{mg} < 0,01\text{mg} < \text{Kontrolle}$) (Tab.4)

Die Polidocanolmenge, die bei den mit 1mg Aescin/kg vorbehandelten Tieren im Bein blieb, lag um die Hälfte niedriger als die der Kontrolltiere.

Dies weist darauf hin, daß das Endothel der Verumgruppen vor der Noxe besser geschützt, also widerstandsfähiger war.

In den Flüssigkeitsmengen, die in den letzten 45 Minuten des Versuches ins Gewebe filtrierte, lagen kaum Unterschiede zwischen Kontrollen und Verumversuchen (Tab.5).

Da Aescin nur den Eiweißübertritt verminderte und wenig Einfluß auf das Wasserödem hatte, war dieses Ergebnis nicht überraschend.

Die Filtrationsstärke lag bei der Dosisgruppe 1 mg Aescin/kg KG höher als bei den Kontrolltieren (Abb.13). Dies könnte damit erklärt werden, daß ein geringes Ödem einen niedrigeren interstitiellen hydrostatischen Druck erzeugt und dadurch die Filtration von Flüssigkeit ins Gewebe erleichtert ist. Die langsame Filtrationsgeschwindigkeit der Dosisgruppe $0,1\text{ mg}$ Aescin/kg ergibt eine gewisse Unstimmigkeit, jedoch muß man bedenken, daß hier nur 2 Versuche durchgeführt wurden.

Im Abschnitt I des Versuches stieg der Perfusionsdruck ständig an (Abb. 7-10). Eine Abhängigkeit des Perfusionsdruckes von der Temperatur fanden Abdel-Sayed et al. (1971), bei ihren Versuchen stieg der Perfusionsdruck mit zunehmender Abkühlung an.

Da während der Schädigungsphase nur eiweißfreie Flüssigkeit perfundiert wurde, war eine nur geringe Viskosität vorhanden. Deshalb erreichte der Perfusionsdruck mit Beginn des Abschnittes III seine niedrigsten Werte.

Zusätzlich kommt wahrscheinlich noch eine maximale Dilatation der Widerstandsgefäße hinzu, die durch den Sauerstoffmangel während der Schädigungsphase bedingt ist.

Parallel mit der Entstehung des Ödems, erhöht sich der interstitielle hydrostatische Druck im Gewebe. Dieser drückte auf die Gefäße und der prä- und postkapilläre Strömungswiderstand stiegen an und damit erhöhte sich der Perfusionsdruck. Auch hier ließ sich die ödemprotektive Wirkung des Aescins in der Dosis 1 mg/kg KG erkennen, da der Perfusionsdruck bei dieser Versuchsgruppe kaum anstieg.

Zu dem allgemeinen Ödem könnte noch ein Ödem der Gefäßwand hinzukommen, das ebenfalls den Strömungswiderstand erhöhen würde. Hammersen et al. (1983,b) fand bei dem Polidocanolödem vermehrt generalisierte Ödeme einzelner Endothelzellen, die zu einer Einengung der Kapillarlichtung führten.

Im Versuchsabschnitt I sank der Blutdruck langsam ab (Abb. 7-10). Dies wurde wahrscheinlich durch mehrere Faktoren ausgelöst. Die relative große extrakorporale Strecke, die ca. 10 ml Blutvolumen

beinhaltet, stellt einen Faktor dar. Zusätzlich kann durch die Gewebeverletzung während der Präparation Histamin ausgeschüttet werden. Der geringe Blutverlust während der Präparation dürfte weniger ausschlaggebend sein.

Auch darf man den Einfluß der Narkose nicht unberücksichtigt lassen.

3. Protektive Aescinwirkung an isolierten Meerschweinchenkarotiden

Ein signifikant protektiver Effekt des Aescins gegenüber der Noxe Polidocanol konnte an den isolierten Meerschweinchenkarotiden nicht festgestellt werden (Tab. 7 u. 8).

Aus dem Ergebnis kann man schließen, daß Aescin keinen Film über das Endothel zieht, um dadurch das Polidocanol vor seiner schädigenden Wirkung zu hindern, wie es von einigen Autoren beschrieben wird (siehe Literatur). Wie aus den Perfusionsversuchen an der Katzenextremität ersichtlich war, konnte durch Aescin auch nur der Austritt von hochmolekularem Eiweiß gehemmt werden und nicht der von eiweißfreier Flüssigkeit. Außerdem würde eine Abdichtung in Gestalt eines Filmüberzuges den transkapillären Flüssigkeitsaustausch in beide Richtungen betreffen, was wiederum ein Ödem begünstigen würde.

Das Aescin vermag vielmehr das Endothel gegenüber dem Austritt hochmolekularer Substanzen zu stabilisieren. Auf welche Weise dies geschieht, ist noch nicht sicher bekannt, jedoch könnte die Hypothese von Enghofer et al. (1983) am wahrscheinlichsten zutreffen. Sie nehmen an, daß Aescin den Austritt der proteoglykanab-

bauenden Enzyme aus den Lysosomen hemmt und es dadurch zu einer Stabilisierung der Kapillarwand kommt (siehe Literaturteil). Dies würde bedeuten, daß die Aescinwirkung an in-vivo Bedingungen gebunden ist und erst mit Verzögerung eintritt. Vogel und Uebel (1960) nahmen ebenfalls an, daß Aescin auf einem Umweg wirksam ist, da bei ihren Untersuchungen das Maximum der Aescinwirksamkeit erst nach einer relativ langen Latenzzeit von ca. 16 h auftrat.

Es muß hinzugefügt werden, daß Aescin unter physiologischen Verhältnissen zum größten Teil an Proteine gebunden wird, teils an Plasmaproteine, teils an Gewebsproteine und außerdem auch Metabolite auftreten können, die eventuell auch eine Wirkungsfunktion haben.

Die hohe Gefäßreaktion auf die intervasale Adrenalin-gabe, zwei Stunden nach Schädigung mit Polidocanol (Tab. 9), könnte damit erklärt werden, daß sich die durch die Noxe geschädigten Muskelzellen nach 2 Std. bereits wieder regeneriert haben, während das Endothel nicht so schnell regenerieren kann. Dadurch könnte das Adrenalin nun ohne Barriere schnell und ungehindert zu den Muskelzellen diffundieren und somit eine stärkere Reaktion auslösen als vor der Schädigung. Bei den Karotiden, die mit Aescin perfundiert wurden, trat die stärkere Adrenalin-kontraktion nach der Schädigung etwas früher auf als bei den Kontrollkarotiden. Dies ließ vermuten, daß durch Aescin die Muskelzellen etwas schneller regenerieren können. Ein signifikanter Schutzeffekt war jedoch auch hier nicht vorhanden.

4. Aescinwirkung am Gefäßendothel isolierter Karotiden

Neben seiner ödemprotektiven Wirkung besitzt Aescin auch vasoaktive Eigenschaften.

Wie die Ergebnisse an den isolierten Karotiden mit intaktem Endothel zeigten, wirkte intravasal appliziertes Aescin biphasisch: zuerst kurz dilatierend, dann lang tonisierend. Pauschinger et al. (1974) konnten diesen biphasischen Aescineffekt ebenfalls an Arterien beobachten.

Felix et al. (1984) führte parallel zu unseren Karotidenversuchen die gleichen Untersuchungen an isolierten Venen (V.iliaca) des Schweines durch. Hier wirkte intravasal appliziertes Aescin (2×10^{-5} mol/l) ebenfalls zuerst dilatierend, dann tonisierend. An Venen wurde in der Literatur bisher jedoch nur über die tonisierende Aescinwirkung berichtet. In unseren Versuchen konnte man eine Dilatation nur erkennen, wenn die Gefäße einen gewissen Tonus besaßen. Diesen Tonus erreichten wir durch Adrenalingaben. Ähnliche Versuche konnten in der Literatur jedoch nicht gefunden werden.

Dilatation

Die dilatierende Aescinwirkung war nur vorhanden, wenn das Aescin intravasal perfundiert wurde. Auf extravasal appliziertes Aescin konnte keine Dilatation, sondern stets nur eine Tonisierung der Gefäße beobachtet werden.

Dieses Ergebnis läßt vermuten, daß die Dilatation eine endothelabhängige Reaktion ist, die über einen Rezeptor vermittelt wird. Dafür spricht auch, daß die Gefäße nach einer Schädigung des Endothels mit verschiedenen Noxen auf Aescingaben nicht mehr dilatierten, sondern nur noch tonisierten (Tab. 16).

Um welchen Rezeptor es sich dabei handelt, steht noch nicht fest. Felix et al. (1984) konnten die Dilatation nicht durch eine β -Blockade mit Pindolol unterdrücken. Dies spricht gegen einen adrenergen Rezeptor.

Endothelrezeptoren wurden erstmals von Furchgott und Zawadzki (1980) für Acetylcholin (ACh) nachgewiesen. ACh wirkte an isolierten Arterien nicht mehr dilatierend, wenn das Endothel zerstört wurde. Dieses Ergebnis konnte bestätigt werden (Tab. 16). Wie Tabelle 14 und Abb. 20 zeigen, wirkte ACh auch nach intravasaler Aescingabe nicht mehr dilatierend, während nach extravasaler Aescingabe die ACh-Dilatation unverändert erhalten blieb.

Man könnte nun annehmen, daß Aescin die ACh Rezeptoren in einem kompetitiven Antagonismus besetzt. Jedoch konnte Atropin, ein Antagonist des ACh, nur die ACh-Dilatation und nicht die Aescindilatation hemmen. Ein kompetitiver Antagonismus scheidet demnach aus. Ein nicht kompetitiver Antagonismus, bei dem sich Aescin irreversibel mit dem Rezeptor verbindet, wäre jedoch nicht ausschließbar.

Perfundierte man die Karotiden ein zweites Mal mit Aescin, war ebenfalls keine Dilatation mehr vorhanden. Dies könnte wiederum bedeuten, daß die Dilatation über Endothelrezeptoren ausgelöst wird, an die sich das Aescin irreversibel bindet. Als andere Möglichkeit besteht die Annahme, daß Aescin als Folge seiner Saponinwirkung das Endothel somit auch die Rezeptoren schädigt, so daß auf eine zweite Aescinapplikation keine Dilatation mehr auslösbar ist.

Tonisierung

Enghofer et al. (1983) vermuteten, daß die Tonisierung indirekter Natur ist und über eine Verstärkung der tonisierenden Wirkung der natürlichen Überträgerstoffe des Sympathicus zustande kommt. Dies mag vielleicht bei in-vivo Verhältnissen zutreffen, bei den in-vitro Versuchen an den isolierten Karotiden konnte diese Vermutung nicht bestätigt werden. Aescin tonisierte die Karotiden ohne Adrenalinzugabe genauso stark wie mit Adrenalingabe. Auch vermuten wir keine stärkere Adrenalinkontraktion nach Aescingabe. Jedoch kann man dies nicht mit Sicherheit sagen, denn nach intravasaler Aescinperfusion blieb ein ständig erhöhter Gefäßtonus vorhanden, das heißt, der Ausgangstonus wurde nicht mehr erreicht. Inwieweit man nun die Adrenalinkontraktion vor und nach der Aescingabe miteinander vergleichen kann, läßt sich nur schwer sagen, da von keinem einheitlichen Grundtonus ausgegangen werden kann. Nach extravasaler Aescingabe wurde der Ausgangstonus wieder erreicht. Hier lag kein Unterschied zwischen der Adrenalinkontraktion vor und nach der Aescingabe vor.

Longiave et al. (1978) führten die Tonisierung auf eine vermehrte intramurale Bildung von $\text{PGF}_{2\alpha}$ zurück, welches die adrenerge Übertragung erleichtern soll und das eventuell die Empfindlichkeit der glatten Muskulatur gegenüber Adrenergica erhöht.

Eine andere Erklärung für die tonisierende Aescinwirkung wäre, daß sie ebenfalls über einen Rezeptor ausgelöst werden könnte.

Nach extravasaler Aescingabe trat aber ebenfalls eine Tonisierung auf, jedoch schwächer als nach intravasaler Aescingabe (Tab. 12). Dieser Befund spricht gegen einen Endothelrezeptor.

Durch eine α -Blockade mit Phentolamin konnte die Tonisierung nicht gehemmt werden (Tab. 17). Ein adrenerger Mechanismus scheidet somit ebenfalls aus. Die Aescintonisierung ließ sich nur mit direkt an der Muskelzelle angreifenden Spasmolytika, Nitroprussidnatrium (Tab. 17), Nifedipin (Felix et al. 1984) und mit dem Kalzium-Antagonisten Verapamil (Tab. 17) abschwächen.

Als andere Möglichkeit könnte noch eine rein mechanische Quellung der Zellen angenommen werden, welche auf die Saponinwirkung zurückzuführen wäre. Dies nahmen auch Lorenz und Marek (1960) und Lochs et al. (1974) an. Sie beurteilten die Aescintonisierung als Gefäßspasmen, die auf einen direkten Gefäßwandreiz durch das Saponin Aescin zurückzuführen sind.

Wie die Versuche mit oral verabreichtem Aescin zeigten, war Aescin bereits ab Dosen von 1 mg Aescin/kg/d über 14 Tage ödemprotektiv wirksam. Man kann annehmen, daß bei den bisherigen Versuchen mit fehlender oraler Wirkung, das Aescin zu hoch und zu kurzzeitig verabreicht wurde. Da sich der protektive Ödemeffekt des Aescin bei den in-vivo Versuchen darauf beschränkte, daß nur der Übertritt von großmolekularem Eiweiß gehemmt war und das Aescin bei den in-vitro Versuchen keine signifikante Schutzwirkung auf Endothel und glatte Muskulatur ausüben konnte, kann man folgendes annehmen:

Aescin umhüllt nicht die zu schützenden Strukturen, sondern wirkt selektiv stabilisierend auf das Gefäßendothel. Diese Stabilisierung kommt nach Enghofer et al. (1983) und Vogel und Uebel (1960) erst mit einer Verzögerung über eine Enzymhemmung zum Ausdruck, ist also an in-vivo Bedingungen gebunden. Ob nun Aescin für diesen Wirkungsmechanismus das Gefäß verlassen muß oder ob es über Endothelrezeptoren wirkt, läßt sich mit den vorliegenden Untersuchungen nicht mit Sicherheit entscheiden. Bei der aufgetretenen biphasischen Aescinwirkung sprechen die Ergebnisse nur bei der Dilatation für eine endothelabhängige Reaktion. Bei der Tonisierung ließ sich dagegen keine endothelabhängige Wirkung vermuten.

VI ZUSAMMENFASSUNG

In zwei Versuchen wurde Aescin, der Hauptinhaltsstoff des Roßkastanienextraktes, auf seine ödemprotektive Wirksamkeit bei oraler, niedrigdosierter, chronischen Applikation und auf seinen Angriffsort im Organismus untersucht.

Die ödemprotektive Aescinwirkung wurde an perfundierten Hinterextremitäten narkotisierter Katzen nach chronisch oraler Medikation getestet.

Zur Frage nach dem Angriffsort des Aescins wurden Versuche an isolierten Meerschweinchenkarotiden durchgeführt. Zum einen wurde untersucht, ob Aescin eine Schutzwirkung gegenüber der Noxe Polidocanol am Gefäßendothel und an der glatten Muskulatur ausübt. zum anderen ob Aescin am Gefäßendothel über eventuell dort vorhandene Rezeptoren wirkt.

Bei den Ödemversuchen an Katzen konnte eine ödemprotektive Aescinwirkung nach 14tägiger oraler Medikation ab der Dosisgruppe 1 mg Aescin/kg/d erhalten werden. Dabei hemmte Aescin nur die Entstehung des Eiweißödems und nicht die des Wasserödems. Es zeigte sich beim Eiweißödem in der Haut eine stärkere ödemprotektive Aescinwirkung als bei dem Eiweißödem in der Muskulatur.

Bei den in-vitro Versuchen an isolierten Meerschweinchenkarotiden zeigte sich am Gefäßendothel und an der glatten Muskulatur keine signifikante protektive Aescinwirkung gegenüber der Schädigung durch Polidocanol.

An den isolierten Meerschweinchenkarotiden mit intaktem Endothel wirkte intravasal appliziertes Aescin (0.0025 % und 0.005 %) biphasisch, zuerst kurz dilatierend dann langanhaltend tonisierend.

Dabei war die Dilatation endothelabhängig. während die Tonisierung auch bei zerstörtem Endothel und nach extravasaler Aescinapplikation auftrat. Die Tonisierung konnte durch eine α -Blockade mit Phentolamin nicht gehemmt werden, sie ließ sich nur mit Nitroprussidnatrium und Verapamil abschwächen. Die initiale dilatierende Wirkung des Aescins ließ sich durch Atropin nicht beeinflussen.

VI Summary

Effect of Aescin for edema protection in oral application and its site of action for its effects in edema protection and in vascular activity.

Aescin, the main component of the extract of horse-chestnut, was examined regarding its effect in edema protection in oral, low-dosage chronic application and regarding its site of action in the organism.

The effect of Aescin for edema protection was tested on the perfused hind legs of anaesthetized cats after chronic oral medication.

To examine the site of action of Aescin, experiments were carried out on isolated arteria carotis of guinea pigs. Firstly Aescin was tested for a protective effect against Polidocanol on the vascular endothelium and on smooth muscle. Secondly Aescin was tested as to whether it acted receptors which are possibly located in the vascular endothelium.

The edema experiments showed that a protective edema effect could be obtained after 14 days of oral medication of 1 mg Aescin/kg/d.. Here Aescin prevented the development of the protein edema but did not prevent the development of the water edema. The prevention was observed more pronounced for the protein edema in the skin than for the protein edema in the muscle.

The in-vitro experiments on isolated guinea pig arteria carotis did not show a significant protective effect of Aescin on Polidocanol caused damage either for the vascular endothelium or for smooth muscle.

On isolated guinea pig arteria carotis with intact endothelium, intravasal-applied Aescin (0,0025 % and 0,005 %) (biphasal) effected first a short relaxation and then an prolonged contraction. The relaxation was dependent on the intact endothelium, whereas the contraction also occurred on destroyed endothelium and after extravasal application of Aescin. Phentolamin was not able to modify the contraction and only Nitroprussidnatrium and Verapamil were able to reduce it.

The initial relaxation effect of Aescin was not influenced by Atropin.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

ABDEL-SAYED, W.A., F.M. ABOUD, M.G. CALVELO, (1971):
Effect of local cooling on responsiveness of muscular
and cutaneous arteries and veins.

Am. J. Physiol. 219, 1772-1778

AIZAWA, Y., T. FUKUI, K. YAMADA, H. KOGO, (1974):

Aescin, antiinflammatory action of Aescin,

Pharmacometrics (Tokyo) 8, 211

ANNONI, F., A. MAURI, F. MARINCOLA, L.F. RESELE, (1979):

Venotonic activity of Aescin on the human saphenous
vein.

Arzneim.-Forsch. 29, 672

ARNOLD, M., M. PRZERWA, (1976): Die therapeutische
Beeinflussbarkeit experimentell erzeugter Ödeme.

Arzneim.-Forsch. 26, 402

BALIS, G.U., R.R. MONROE, (1964): The pharmacology
of chloralose, a review.

Psychopharmacologia 6, 1-30

BEACH, V.L., B.G. STEINETZ, (1961): Quantitative
measurements of Evans blue space in the tissue rat.

J. Pharmacol. 131, 400

BERTI, F., C.O. OMINI, D. LONGIAVE, (1977): The mode
of action of Aescin and the release of prostaglandins.

Prostaglandins 14, 241

BRENDEL, W., E. KOPPERMANN, R. THAURER, (1954): Der
Kreislauf in Narkose.

Pflügers Arch. ges. Physiol. 259, 357-380

BUCHHOLZ, H.U., (1957): Kapillarfunktion und Wasserhaushalt während des Menstruationszyklus und in der Schwangerschaft im Hinblick auf prophylaktische und therapeutische Möglichkeiten.

Die Medizinische Nr. 24, 93

BUDDECKE, E., H. KRESSE, (1969): Mucopolysaccharide und Enzyme des Mucopolysaccharidstoffwechsel im Arterien- und Venengewebe.

Angiologia 6, 89

CLARA, M., (1953): Morphobiologische Probleme der Kapillarwand.

Bull. Fac. Med. Istanbul 18, 117

CLAUSS, G., H. EBNER, (1975): Grundlagen der Statistik.

Verlag Harri Deutsch, Zürich

EISENBURGER, R., G. HOFRICHTER, H.D. LIEHN, E. LUDWIG, (1976): Zur Pharmacodynamik von + β -Aescin nach Applikation per os.

Arzneim.-Forsch. 26, 821

ENGHOFER, E., H.W. KREYSEL, H.P. NISSEN, (1983): Increased serum levels of lysosomal enzymes in varicosis and their reduction by an extract from seeds of horse chestnut.

In: Loose, D.A. (hrsg): Vorsorgemaßnahmen zur Erfassung der Gefäßkrankheiten.

Periodica Angiologica Bd. 3, Einhorn-Press-Verlag Reinbeck, 170

FELIX, W., (1962): Strömungsmessung mit Thermistoren

Naunyn-Schmiedeberg Arch. exp. Path. u. Pharm. 244, 254

FELIX, W., (1978): Zur Wirkung von O-(β -Hydroxyethyl)-rutosiden auf die Ödembildung durch Ethoxysklerol und Thiopental am Hinterlauf der Katze.
In VOELTER, W., G. JUNG (hrsg): O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside, experimentelle und klinische Ergebnisse.
Springer-Verlag

FELIX, W. (1980): Zum Problem Venenmittel.
Med.Welt 31, 813 - 816

FELIX, W., (1982): Pharmakologie
In RIEGER, H. (hrsg): Untersuchungen zur Epidemiologie, Pathophysiologie, Diagnostik und Therapie venöser Erkrankungen. Vasa Supplementum 7, Huber-Verlag Bern

FELIX, W., J. REMIEN, K. HÄLLFRITZSCH, (1971): Zur Messung der Venenreaktion im Tierversuch.
Pflügers Arch. 329, 325-359

FELIX, W., E. SCHNEIDER, A. SCHMIDT, G. GRIMM (1984): Vasoaktive Wirkungen von α -Aescin.
In FISCHER, H. (hrsg): Chronische Veneninsuffizienz Pathogenese und medikamentöse Therapie Bd. 30
Schattauer Verlag Stuttgart

FISCHER, H., (1981): Venenleiden, Tübinger Studie
Urban u. Schwarzenberg, München-Berlin-Wien

FURCHGOTT, R.F., J.V. ZAWADZKI, (1980): The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine.
Nature 288, 373

GAUER, O.H., K. KRAMER, R. JUNG, (1972): Physiologie des Menschen, Herz und Kreislauf.
Urban u. Schwarzenberg, München-Berlin-Wien

GLAUERT, M. J. DINGLE, A. LUCY (1962): Action of Saponin on biological cell membranes.
J. gen. Physiol. 52, 1968

HAMMERSEN, F., (1972): Ein morphologischer Beitrag zum Wirkungsmechanismus gefäßaktiver Pharmaka.
Fortschr. Med. 90, 609

HAMMERSEN, F., E. HAMMERSEN, U. OSTERKAMP-BAUST, (1983 a): Bau und Funktion endothelialer Zellen, eine Einführung.
In MESSMER, K., F. HAMMERSEN (hrsg): Struktur und Funktion endothelialer Zellen. Karger Verlag Basel

HAMMERSEN, F., E. HAMMERSEN, (1983 b): Zur Ultrastruktur des durch Ethacrynsäure oder Polidocanol hervorgerufenen Ödems und seine Beeinflussung durch HR.
In VOELTER, W., G. JUNG (hrsg): O-(β -Hydroxyethyl)-rutoside, experimentelle und klinische Ergebnisse
Springer Verlag Berlin

HAMPEL, H., G. HOFRICHTER, H. LIEHN, W. SCHLEMMER, (1970): Zur Pharmakologie der Aescin-Isomere unter besonderer Berücksichtigung von -Aescin.
Arzneim.-Forsch. 20, 209

HELMKE, K., (1939):
Über den Zellkollaps.
Virchows Arch. path. Anatomie 304, 255

HENSCHLER, D., K. HEMPLE, B. SCHULZE, W. MAURER, (1971): Zur Pharmakokinetik von Aescin.
Arzneim.-Forsch. 21, 1682

HESS, O., (1967): Tierexperimentelle Untersuchungen zur Therapie des Hirnödems.
Arzneim.-Forsch. 17, 931

HINDEMITH, H., (1943): Einige pharmakologische Eigenschaften des Roßkastaniensaponins.

Archiv f. experimentelle Pathologie und Pharmakologie 201, 397

KREYSEL, H.W., E. ENGHOFFER, H.P. NISSEN, (1983): Erhöhte Serumaktivitäten lysosomaler Enzyme bei Varikosis, Beeinflussung durch einen Roßkastanienextrakt.

Therapiewoche 33, 1099

KUCHLING, D., (1977): Physik, Formel und Gesetze. Buch- und Zeit- Verlagsgesellschaft mbH, Köln

KUSCHINSKY, G., H.LÜLLMANN (1982): Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie (1-36). Georg Thieme Verlag Stuttgart

LANDE, DE LA, I.S., M.J. RAND, (1965): A simple isolated nerve - blood vessel preparation.

Aus. J. exp. Biol. Sci. 43, 639-659

LANDE, DE LA, I.S., A. VIKTORIA, A. CANELL and J.G. WATERSON, (1966): The interaction of Serotonin and Noradrenaline on the perfused artery.

Br. J. Pharmac. Chemother. 28, 255-272

LANG, W., H. MENNICKEN, (1972): Pharmakologische Untersuchungen mit tritiiertem Aescin an Maus und Ratte.

Arzneim.-Forsch. 22, 1928

LANG, W., (1984): Untersuchungen zur Dialysierbarkeit von Aescin.

Arzneim.-Forsch. 34, 221-223

LANGE, L.M., M. ECHT, (1972): Vergleichende Untersuchungen über venentonisierende Pharmaka.
Fortschr. Med. 31, 1161

LOCHS, H., H. BAUMGARTNER, H. KONZETT, (1974): Zur Beeinflussung des Venentonus durch Roßkastanienextrakte.
Arzneim.-Forsch. 24, 1347

LONGIAVE; D., C. OMINI, S. NICOSIA, F. BERTI,
(1978): The mode of action of Aescin on isolated veins. Relationship with PGF_2
Pharmacological Research Communication Vol. 10,
Nr. 2, 145

LONICERUS, (1564): Kräuterbuch

LORENZ, D., M.L. MAREK, (1960): Das therapeutisch wirksame Prinzip der Roßkastanie, 1. Mitteilung
Arzneim.-Forsch. 10, 263

NEHRING, K., (1966): Zum Nachweis der Wirksamkeit von Roßkastanienextrakt auf den Venentonus nach oraler Applikation.
Med. Welt 32, 1662

PATT, P., W. WINKLER, (1960): Das therapeutische Prinzip der Roßkastanie. 2. Mitteilung, zur Chemie des Wirkstoffes.
Arzneim.-Forsch. 10, 273-275

PAUSCHINGER, P., H. PIECHOWIAK, W. SCHNIZER, H. HAMPEL,
(1974): Hämodynamische Effekte von Roßkastanienextrakt.
Med. Welt 25, 603-608

PREZIOSI, P., P. MANCA, (1965): Die antiödem- und die antiinflammatorische Wirkung von Aescin und ihre Beziehung zur Hypophysen-Nebennieren-Achse. *Arzneim.-Forsch.* 15, 404

REMIEN, J., S. SILBER, W. FELIX, (1974): Venentonisierung durch Roßkastanienextrakte. *Phlebol. Protokoll* 3, 35

ROTHKOPF, M., G. VOGEL, (1976): Neue Befunde zur Wirksamkeit und zum Wirkungsmechanismus des Roßkastaniensaponins Aescin. *Arzneim.-Forsch.* 26, 225

RUDOFISKY, G., (1982): Pathophysiologie der Venen In RUDOFISKY, G., (hrsg): Pathophysiologie und Pharmakologie. Perimed Fachbuchverlagsgesellschaft mbH Erlangen

SCHNEIDER, W., H. FISCHER, (1969): Die chronisch venöse Insuffizienz. Enke Verlag Stuttgart

SCHNEIDER, E., (1984): Zur Reaktivität des Kreislaufes unter Ketanserin, einem neuen Serotonin-Antagonisten. Diss. med. vet. München 1984

SIERING, H., (1962): Die Permeabilität von Zellmembranen für Ionen unter dem Einfluß von Aescin. *Arzneim.-Forsch.* 12, 376

STARLING, E.H., (1886): On the absorption of fluids from the connective tissue space. *J. Physiol. (London)* 19, 312-326

STÜNZI, H., E. WEISS, (1982): Allgemeine Pathologie
für Tierärzte und Studierende der Tiermedizin.
Paul Parey Verlag

STUMPE, K., F. KRÜCK, (1970): Das dicke Bein,
Diagnostik, Therapie.
Hans Huber Verlag, Bern

UEBEL, H., P. PATT, (1960): Das therapeutisch
wirksame Prinzip der Roßkastanie.
4. Mitteilung: Zur Toxikologie des Wirkstoffes.
Arzneim.-Forsch. 10, 280

UHLIG, G., (1981): Antiphlogistische Wirksamkeit
verschiedener Pharmaka.
Z.Allgm.Med. 57, 44

VOGEL, G., L.M. MAREK, J. STOECKERT, (1963):
Weitere Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus
des Aescin.
Arzneim.-Forsch. 13, 59-64

VOGEL, G., H. UEBEL, (1960): Das therapeutische
Prinzip der Roßkastanie.
3. Mitteilung: Zur Frage von Angriffspunkt und
Wirkungsmechanismus.
Arzneim.-Forsch. 10, 275-280

VOGEL, G., M.L. MAREK; R. OERTNER, (1970):
Untersuchungen zum Mechanismus der therapeutischen
und toxischen Wirkung des Roßkastanien-Saponins
Aescin.
Arzneim.-Forsch. 20, 699-703

WAGNER, J., W. SCHLEMMER, H. HOFMANN, (1970):
Der Inhaltsstoff der Roßkastanie.
Arzneim.-Forsch. 20, 205

WIENERT, V., (1984): Die Beinveneninsuffizienz
Schattauer Verlag, Stuttgart

ZOLLINGER, H.U., (1951): Die pathologische
Anatomie der Nephritiden.
Helvet. med. Acta 18, 269

Herrn Prof. Dr. W.Felix danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und für die jederzeit gewährte Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. A.Petter danke ich für die Durchsicht der Arbeit und die wohlwollende Beratung.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Frau Dr.E.Schneider, Frau Steigerwald und Frau Schubert, die mir bei der Durchführung aller praktischen Arbeiten stets ihre volle Unterstützung gewährten.

Bei Herrn Gerhard Grimm bedanke ich mich besonders für die kollegiale Zusammenarbeit während der Durchführung der Experimente.

Für ihre Hilfe bei den Schreibarbeiten danke ich Frau Monika Luding.

Lebenslauf

Geboren: am 16. Juli 1957 in Hof

Eltern: Prokurist Rudolf Schmidt
Mariechen Schmidt geb. Schuster

Schulausbildung: 1963 - 1968 Volksschule Hof
1968 - 1977 Jean-Paul-Gymnasium Hof
Juni 1977 Abitur

Studium: WS 1977/78 - WS 1982/83 Studium der
Tiermedizin an der Ludwig-Maximilian-
Universität München
Staatsexamen Januar 1983

Approbation: Februar 1983

